

Universität Zürich
Zentrum für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde
Vorsteher: Prof. Dr. med. dent. Ch. Hämmerle
Klinik für Präventivzahnmedizin, Parodontologie und Kariologie
Direktor: Prof. Dr. med. dent. T. Attin

Arbeit unter Leitung von Dr. med. dent. A. Wiegand

Auswirkung der in situ gebildeten Speichelpellikel auf
durch verschiedene Säuren hervorgerufene Schmelz- und
Dentinerosionen

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnmedizin der Medizinischen Fakultät
der Universität Zürich

vorgelegt von
Salome Elisabeth Bliggenstorfer
von Zürich

Genehmigt auf Antrag von Prof. Dr. med. dent. T. Attin
Zürich 2009

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Einleitung	2
3	Literaturübersicht	5
	3.1 Struktur der gesunden Zahnhartsubstanzen	5
	3.1.1 Schmelz	5
	3.1.2 Dentin	6
	3.2 Speichel	7
	3.2.1 Speichelproduktion	7
	3.2.2 Speichelzusammensetzung und Funktion	9
	3.3 Pellikel	11
	3.3.1 Definition	11
	3.3.2 Pellikelbildung	12
	3.3.3 Pellikelzusammensetzung	14
	3.3.4 Pellikeleigenschaften	17
	3.4 Erosion	19
	3.4.1 Definition	19
	3.4.2 Ätiologie und klinisches Bild der Erosion	20
	3.4.3 Pathophysiologie der Erosion	22
	3.4.4 Modifizierende Faktoren	23
4	Versuchsplanung	27
5	Material und Methode	29
	5.1 Herstellung der Schmelz- und Dentinproben	29
	5.2 Herstellung der intraoralen Apparaturen	30
	5.3 Auswahl der Probanden und Probandenkalibrierung	31
	5.4 Speichelparameter der Probanden	32
	5.5 Versuchsablauf	32
	5.6 Atomabsorptionsspektroskopie	33
	5.7 Statistische Auswertung	34

6	Ergebnisse	35
	6.1 Ergebnisse der Schmelzproben	35
	6.2 Ergebnisse der Dentinproben	39
	6.3 Vergleich der Ergebnisse zwischen Schmelz- und Dentinproben	42
	6.4 Speichelparameter	44
7	Diskussion	47
	7.1 Diskussion der Methodik	47
	7.1.1 Probenmaterial	47
	7.1.2 Intraorale Pellikelbildung	48
	7.1.3 Säureexposition der Schmelz- und Dentinproben	51
	7.2 Diskussion der Ergebnisse	52
	7.2.1 Reduktion des Kalziumverlustes durch die Schmelz- und Dentinpellikel	52
	7.2.2 Wirkung der verschiedenen Säuren auf die Schmelz- und Dentinpellikel	54
8	Literaturverzeichnis	57
9	Tabellarischer Anhang	73
10	Danksagung	75
11	Lebenslauf	76

1 Zusammenfassung

Ziel: Das Ziel dieser Studie war es, die säureprotektive Eigenschaft der in situ gebildeten Speichelpellikel auf Schmelz- und Dentinerosionen durch verschiedene Säuren (Salz-, Zitronen-, Phosphorsäure, pH 2.6) zu untersuchen und zu vergleichen.

Material und Methode: Bovine Schmelz- und Dentinproben wurden von 10 gesunden Probanden für jeweils 120 min in intraoralen Apparaturen getragen, um eine in situ Pellikel zu etablieren. Anschliessend wurden diese Schmelz- und Dentinproben extraoral in 1 ml Salz-, Zitronen-, Phosphorsäure (pH 2.6, 60 s, pro Säure n = 30 Schmelz- und n = 30 Dentinproben) oder Wasser (n = 30 Schmelz- und n = 30 Dentinproben) exponiert. Als Kontrolle dienten „Pellikel-freie“ Proben (pro Säure n = 10 Schmelz- und n = 10 Dentinproben). Der Zahnhartsubstanzverlust wurde durch eine Kalziumbestimmung in der entsprechenden Säure durch Atomadsorptionsspektrometrie bestimmt. Danach wurden die Werte mittels zwei-faktorieller ANOVA und Tukey Tests statistisch ausgewertet ($\alpha = 0.05$).

Ergebnisse: „Pellikel-bedeckte“ Schmelz- und Dentinproben zeigten keinen Kalziumverlust nach Wassereexposition. Das Vorhandensein einer Pellikel führte sowohl auf Schmelz als auch auf Dentin zu einem signifikant geringeren Kalziumverlust als bei den Kontrollproben. Die Protektion der Pellikel (% der Reduktion des Kalziumverlustes) war signifikant besser für Schmelzproben [$60.9 \pm (5.3)$] als für Dentinproben [$30.5 \pm (5.0)$], wobei sich kein Unterschied zwischen den verschiedenen Säuren zeigte.

Zusammenfassung: Der Erosionsschutz einer in situ gebildeten Pellikel war zweimal besser für Schmelz als für Dentin. Die Art der Säure hatte bei einem pH-Wert von 2.6 keinen Einfluss auf die Schutzeigenschaften der Pellikel sowohl für Schmelz- als auch für Dentinproben.

2 Einleitung

Dentale Erosionen sind als der durch Säure verursachte, oberflächliche und irreversible Zahnhartsubstanzverlust definiert, der ohne die Beteiligung von Mikroorganismen auf plaquefreien Zahnoberflächen entsteht (Zipkin and Mc Clure 1949, Addy and Shellis 2006). Die Säureangriffe können sowohl exogener als auch endogener Natur sein. Zu den exogenen Ursachen gehört der Konsum säurehaltiger Softdrinks (Al-Dlaigan et al. 2002, Hannig et al. 2005b, Lussi et al. 2005), saurer Früchte, Fruchtsäfte, Gemüse und Medikamente (Järvinen et al. 1991, Zero 1996, Lussi and Jaeggi 2002). Die endogenen Ursachen umfassen Erkrankungen, bei welchen saurer Mageninhalt in Kontakt mit der Mundhöhle kommt bzw. die mit häufigem Erbrechen einhergehen, wie zum Beispiel Reflux, Regurgitation, Alkoholabusus und Bulimia nervosa (Imfeld 1996, Scheutzel 1996, Rytömaa et al. 1998).

Das Ausmass dentaler Erosionen wird durch verschiedene chemische, verhaltensbedingte und biologische Faktoren beeinflusst. Zu den chemischen Faktoren gehören pH-Wert, titrierbare Säurekonzentration, Pufferkapazität und Kalzium-, Phosphat- und Fluoridkonzentration einer sauren Lösung (Lussi and Jaeggi 2006). Die verhaltensbedingten Faktoren umfassen ungewöhnliche Ess- und Trinkgewohnheiten sowie übermässigen Konsum saurer Nahrungsmittel und Getränke (Zero and Lussi 2006). Zu den wichtigsten biologischen Faktoren zählen der Speichel und die Pellikel (Meurman and Frank 1991, Hara et al. 2006a).

Speichel hat verschiedene Aufgaben, zu welchen unter anderem Lubrikation und Schutz oraler Hart- und Weichgewebe gehören. Das orale Weichgewebe wird vor Austrocknung, Ulzerationen und dem Eindringen von Mikroorganismen geschützt (Mandel 1987).

Zudem ist Speichel in der Lage die Zahnhartsubstanzen in einem gewissen Ausmass vor Erosionen zu schützen, indem erosive Agenzien verdünnt, wegspült, neutralisiert und gepuffert werden. Dadurch und durch die Bereitstellung von Mineralien (Kalzium, Phosphat und Fluorid) wird die Demineralisation der Zahnhartsubstanz reduziert und die Remineralisation unterstützt (Hannig and Balz 1999, Hara et al. 2006a).

Auch die Speichelpellikel wirkt protektiv auf die Entwicklung dentaler Erosionen. In vitro (Zahradnik et al. 1976, Zahradnik et al. 1978, Nieuw Amerongen et al. 1987, Featherstone et al. 1993) und in vivo (Hara et al. 2006b, Hall et al. 1999, Hannig et al. 2003) konnte gezeigt werden, dass die Pellikel die Demineralisation der Zahnhartsubstanzen durch erosive Säureangriffe reduziert. Diese Speichelbiopolymerschicht entsteht innerhalb weniger Minuten durch die selektive Adsorption von Proteinen und Glykoproteinen aus dem Gesamtspeichel und bildet sich auf allen festen Unterlagen der Mundhöhle (Yao et al. 2003, Hannig et al. 2004a, Hannig et al. 2008).

Die Pellikel schützt vor erosiven Angriffen, indem sie entweder als Diffusionsbarriere oder als semipermeable Membran fungiert, welche den direkten Kontakt zwischen erosiven Säuren und der Zahnoberfläche modifiziert (Hannig et al. 2003, Hannig and Joiner 2006, Hara et al. 2006a). Trotz der Anwesenheit einer Speichelpellikel kann die Erosion nicht vollständig verhindert, sondern die Demineralisation nur verlangsamt und der Kalziumverlust im Vergleich zu pellikelfreien Proben signifikant reduziert werden (Hannig and Balz 1999, Nekrashevych and Stösser 2003, Hannig et al. 2004b, Hannig et al. 2007).

Während die protektiven Eigenschaften der Pellikel auf Schmelz schon in einigen in situ Studien untersucht wurden (Hannig and Balz 1999, Hara et al. 2006b, Hannig et al. 2004b, Hannig et al. 2003), wurde der Einfluss der Pellikel auf Dentin in nur einer Studie analysiert (Hannig et al. 2007). Bisher wurde in keiner Studie die Wirkung der in situ gebildeten Pellikel auf Schmelz und Dentin unter den gleichen Versuchsbedingungen betrachtet, so dass keine direkten Vergleiche bezüglich Pellikelschutz zwischen den beiden Zahnhartsubstanzen gemacht werden können. Da Hannig et al. (2005b) feststellten, dass verschiedene Säuren unterschiedlich starke Erosionen auf Schmelzoberflächen hervorrufen, stellt sich die Frage, ob bei der Anwesenheit einer in situ gebildeten Pellikel ähnliche Ergebnisse resultieren oder ob die Pellikel gegen verschiedene Säuren den gleichen Schutz aufweist.

Das Ziel dieser Studie war es, den Einfluss der in situ gebildeten Pellikel auf die Entwicklung von Schmelz- und Dentinerosionen zu untersuchen und zu überprüfen, ob die Pellikel unterschiedlich protektiv auf verschiedene Säuren wirkt.

3 Literaturübersicht

3.1 Struktur der gesunden Zahnhartsubstanzen

3.1.1 Schmelz

Ausgereifter Zahnschmelz ist die härteste Substanz des menschlichen Körpers (Gwinnett 1992, Hellwig et al. 2007). Seine Härte liegt im Durchschnitt zwischen 250 KHN (Knoop-Hardness-Numbers) an der Schmelz-Dentin-Grenze und 390 KHN an der Schmelzoberfläche (Hellwig et al. 2007).

Schmelz besteht zu ca. 93 bis 98 Gew.% aus anorganischem Material, zu 1,5 bis 4 Gew.% aus Wasser und zu weniger als 1 Gew.% aus organischen Verbindungen wie Proteinen und Lipiden (Gwinnett 1992, Hellwig et al. 2007). Kalzium und Phosphor stellen den grössten Anteil der anorganischen Schmelzkomponente dar, während Karbonat, Magnesium und Natrium nur in geringeren Mengen enthalten sind (Tab 3.1).

Bestandteil	Trockengewicht (%)	Mol/100g
Ca	36.4	0.91
P	17.4	0.56
CO ₂	2.7	0.061
Na	0.66	0.029
Mg	0.40	0.016
Cl	0.23	0.0065
K	0.03	0.0008
F	0.01	0.0005

Tab. 3.1. Zusammensetzung der anorganischen Bestandteile von humanem Schmelz
(Patel and Brown 1975)

Kalzium und Phosphor liegen in einem Verhältnis von 1:1,2 als Apatitverbindung ($\text{Ca}_{10-x}\text{PO}_{6-x} \cdot x \text{X}_2 \cdot x \text{H}_2\text{O}$) in Form kleiner Kristalle vor (Hellwig et al. 2007). Die Apatitkristalle des Schmelzes sind im Querschnitt annähernd hexagonal und stellen sich in der Seitenansicht als kleine Stäbchen dar. Diese sind durchschnittlich 160 nm lang, 40-70 nm breit und 26 nm dick (Hellwig et al. 2007). Je etwa 100 Schmelzkristalle lagern sich im Querschnitt aneinander und bilden so genannte Schmelzprismen, die sich wellenförmig von der Schmelz-Dentin-Grenze bis fast zur Schmelzoberfläche ausdehnen. Jeder Apatitkristall ist von einer Protein-Lipid-Schicht und einer Hydratationsschale umgeben, die den Hauptanteil des im Schmelz enthaltenen Wassers bildet.

3.1.2 Dentin

Dentin ist im Gegensatz zu Schmelz weniger stark mineralisiertes Gewebe und deshalb weicher als Schmelz. Es besteht zu 70 Gew.% aus anorganischem, zu 20 Gew.% aus organischem Material und zu 10 Gew.% aus Wasser (Hellwig et al. 2007). Der anorganische Anteil besteht ebenso wie der des Zahnschmelzes hauptsächlich aus Kalzium und Phosphat, die auch in Form von Apatitkristallen vorliegen. Diese ordnen sich jedoch nicht in Prismenform an, sondern weisen je nach Dentinart eine unterschiedliche Dichte auf. So ist das peritubuläre Dentin, das die Dentinkanälchen auskleidet, sehr homogen und am stärksten von allen Dentinstrukturen mineralisiert. Intertubuläres Dentin, das die einzelnen Dentinkanälchen voneinander trennt, ist jedoch weniger dicht mineralisiert und besteht zu über 50% aus kollagenem Flechtwerk (Hellwig et al. 2007). Die Kristalle des Dentins sind zudem erheblich kleiner und dünner als im Zahnschmelz: 20 nm lang, 18-20 nm breit, 3,5 nm dick (Hellwig et al. 2007). Dentin wird

lebenslang von den Odontoblasten gebildet, deren Zellkörper in der Pulpa an der Pulpa-Dentin-Grenze liegen. Von diesen Zellkörpern ziehen die Odontoblastenfortsätze im koronalen Bereich s-förmig bis zur Schmelz-Dentin-Grenze bzw. im apikalen Bereich gerade bis zur Zement-Dentin-Grenze. Die Dichte und der Durchmesser der Dentinkanälchen nehmen von der Peripherie zur Pulpa hin zu. Dentin ist aufgrund der hohen Dichte der Dentinkanälchen sehr „porös“ und weist eine wesentlich höhere Permeabilität als Schmelz auf (Hellwig et al. 2007). Die Odontoblastenfortsätze werden in den Dentinkanälchen von Flüssigkeit und organischen Strukturelementen umgeben (periodontoblastischer Raum).

3.2 Speichel

Speichelflüssigkeit ist ein klares, leicht saures, mukoseröses, exokrines Drüsensekret (Humphrey and Williamson 2001) und spielt eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der oralen Gesundheit. Jegliche Veränderung der Zusammensetzung oder Menge des Speichels kann deshalb zu einer Variation des oralen Gesundheitsstatus führen (Humphrey and Williamson 2001, Agha-Hosseini et al. 2006).

3.2.1 Speichelproduktion

Menschlicher Speichel wird von den drei grossen paarig angelegten Speicheldrüsen, (Glandula parotis, Glandula submandibularis, Glandula sublingualis) und zahlreichen kleinen Speicheldrüsen, die in der labialen, buccalen und palatinalen Mundschleimhaut liegen, produziert (Veerman et al. 1996, Dodds et al. 2005). Die Speichelproduktion ist ein zweistufiger Prozess. Initial entsteht in den Azinuszellen der Speicheldrüsen der

isotonische, plasmaähnliche Primärspeichel. In einem zweiten Schritt resorbieren die Duktuszellen Na^+ und Cl^- aus dem Primärspeichel. Der so entstandene Sekundärspeichel ist hypoton (Dodds et al. 2005). Azinuszellen legen die Qualität des Sekretionsproduktes der unterschiedlichen Drüsen fest. Das Sekret kann rein serös (Glandula parotis), rein mukös (kleine Speicheldrüsen) oder seromukös (Glandula submandibularis, Glandula sublingualis) sein (Humphrey and Williamson 2001).

Als Gesamtspeichel bezeichnet man die komplexe Mischung von Flüssigkeiten der verschiedenen Speicheldrüsen, der Sulkusflüssigkeit, nichtadhärenter Mundhöhlenbakterien, Speiseresten, desquamierten Epithelzellen und Blutzellen (de Almeida et al. 2008). Die durchschnittliche Gesamtspeichelflussrate unterliegt interindividuellen Unterschieden und variiert zwischen 0.5 l und 1.5 l pro Tag (Humphrey and Williamson 2001, Hellwig et al. 2007, de Almeida et al. 2008). Man unterscheidet zwischen unstimulierter und stimulierter Speichelflussrate. Bei Erwachsenen bewegt sich die normale unstimulierte Speichelflussrate zwischen 0.25 und 0.35 ml/min (Hellwig et al. 2007, de Almeida et al. 2008), wozu die Glandula parotis 20%, die Glandula submandibularis 65%, die Glandula sublingualis 8% und die kleinen Speicheldrüsen weniger als 10% beitragen (Humphrey and Williamson 2001). Durch mechanische, gustatorische oder olfaktorische Stimuli wird die Speichelproduktion angeregt (Mandel 1987, Humphrey and Williamson 2001). Die stimulierte Speichelflussrate bei Erwachsenen beläuft sich auf 1 bis 3 ml/min (Hellwig et al. 2007, de Almeida et al. 2008). Der prozentuale Beitrag jeder Speicheldrüse verändert sich dabei enorm, wobei die Glandula parotis mehr als 50% des Gesamtspeichels sezerniert (Humphrey and Williamson 2001, de Almeida et al. 2008).

3.2.2 Speichelzusammensetzung und Funktion

Gesamtspeichel besteht zu etwa 99% aus Wasser, Immunglobulinen, Proteinen, Enzymen, Muzinen, Spuren von Albumin, stickstoffhaltigen Produkten, wie Harnstoff und Ammoniak und aus verschiedenen Elektrolyten (Natrium, Kalium, Kalzium, Chlorid, Magnesium, Bikarbonat, Phosphat, Fluorid) (Humphrey and Williamson 2001, Hellwig et al. 2007, de Almeida et al. 2008).

Das Sekret der Glandula parotis ist charakterisiert durch einen hohen Anteil an Amylase, prolinreicher Proteine (PRPs) und Glykoproteinen, enthält aber nur sehr geringe Cystatin- und Lysozymmengen. Speichel der Glandula sublingualis ist charakterisiert durch hohe Konzentrationen an mukösen Glykoproteinen (MG I und MG II, so genannte Muzine) und Lysozym. Speichel der Glandula submandibularis enthält die höchste Konzentration an Cystatin (Veerman et al. 1996).

Zu den Speichelfunktionen zählen Lubrikation und Schutz der oralen Hart- und Weichgewebe, Pufferung und Clearance, antimikrobielle Aktivität, sowie Geschmack und Verdauung. Durch eine erhöhte Clearance und erhöhte Mineralkonzentration im Speichel kann der Demineralisation von Zahnhartsubstanzen vorgebeugt werden. Die Pellikelbildung wirkt zudem protektiv auf einen säureinduzierten Zahnhartsubstanzverlust (Mandel 1987, Humphrey and Williamson 2001).

Der Beitrag des Speichelsekrets im Verdauungsprozess ist vorbereitend. Die ersten Verdauungsprozesse finden in der Mundhöhle durch Enzyme (α -Amylase, Lipase) des Speicheldrüsensekrets statt (Mandel 1987). Der hohe Wassergehalt des Parotissekrets und die Lubrikation durch Muzine fördern die Gleitfähigkeit des Bolus, der sich deshalb

müheless in die hintere Region der Mundhöhle bewegt und leicht geschluckt werden kann (Mandel 1987).

Der pH-Wert des Ruhespeichels bewegt sich zwischen 6 und 7 (Humphrey and Williamson 2001, de Almeida et al. 2008). Das Bikarbonatpuffersystem ist das wichtigste Puffersystem für die Aufrechterhaltung des nahezu neutralen pH-Wertes in der Mundhöhle (Mandel 1987, Humphrey and Williamson 2001). Bikarbonat wird von der Glandula parotis sezerniert. Deshalb erhöht sich bei stimulierter Speichelflussrate die Bikarbonatkonzentration von 5 auf 60mmol/l und der Speichel-pH-Wert steigt an (Hara et al. 2006a, Hellwig et al. 2007). Die Pufferwirkung des Speichels ist somit während der stimulierten, hohen FlieBssrate effizienter, während sie bei unstimuliertem Speichelfluss weniger bemerkbar ist (Humphrey and Williamson 2001). Stattdessen tragen histidinreiche Peptide und Phosphate zur Pufferung bei (Mandel 1987). Der intraorale pH-Wert wird somit gemeinsam durch das Puffersystem, die Clearance und die FlieBssrate des Speichels beeinflusst (Humphrey and Williamson 2001). Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass sich bei der Nahrungsaufnahme die SpeichelflieBssrate erhöht, wodurch einerseits Säuren und Kohlenhydrate verdünnt und rasch geschluckt, andererseits Säuren neutralisiert werden, die durch die Nahrung aufgenommen und von Plaquebakterien gebildet wurden. So wirkt Speichel der Entstehung von Karies und Erosionen entgegen.

sIgA, IgG, IgM sind immunologische Bestandteile des Gesamtspeichels. sIgA wirkt antibakteriell, antiviral und kann Bakterien verklumpen, wodurch die Bakterienanheftung an das Wirtsgewebe verhindert wird (Humphrey and Williamson 2001). Nichtimmunologische antibakterielle Speichelbestandteile wie Muzine und Proteine (Laktoferrin, Lysozym, Peroxidase) helfen die Zähne gegen physikalische, chemische

und mikrobielle Angriffe zu schützen. Muzine haben neben lubrifizierenden auch antibakterielle Eigenschaften, denn sie können selektiv die Adhäsion von Mikroorganismen an die Mundhöhlenoberflächen verhindern, indem sie mit den Mikroorganismen verklumpen (Tabak et al. 1982, Humphrey and Williamson 2001). Auch andere Proteine, wie Glykoproteine, Statherine, Agglutinine, histiminreiche und prolinreiche Proteine können Bakterien aggregieren. Diese Verklumpungsprozesse reduzieren die Fähigkeit der Mikroorganismen sich an intraorale Hart- und Weichgewebeoberflächen anzuheften und kontrollieren so die bakterielle, virale und mykotische Kolonisation (Mandel 1987, Humphrey and Williamson 2001). Folglich werden diese verklumpten Mikroorganismen rasch durch den Speichelfluss weggespült und verschluckt (Tabak et al. 1982).

3.3 Pellikel

3.3.1 Definition

Dawes et al. (1963) schlugen als erste den Begriff „acquired pellicle“ vor und beschrieben die Pellikel als eine azelluläre, vorwiegend bakterienfreie Schicht, die auf allen Zähnen nach deren Durchbruch entsteht. Die Speichelbiopolymerschicht bildet sich auf allen festen Unterlagen der Mundhöhle und nennt sich Pellikel, acquired enamel pellicle oder erworbenes Schmelzhäutchen (Hannig et al. 2008). Man nimmt an, dass die Pellikel das Ergebnis einer selektiven Adsorption von Proteinen und Glykoproteinen aus dem Gesamtspeichel an die Schmelzoberfläche ist (Sønju and Rølla 1973, Yao et al. 2003).

3.3.2 Pellikelbildung

Die Pellikelbildung wird gesteuert über die Adsorption von Bestandteilen aus Gesamtspeichel, Sulkusflüssigkeit und Bakterien auf die Schmelzoberfläche. Die Bildung der Pellikel ist ein hochselektiver Prozess, da nur ein Bruchteil der im Speichel verfügbaren Proteine in der Pellikel zu finden sind (Hannig and Joiner 2006). Yao et al. (2003) und Rykke et al. (1990) konnten zeigen, dass signifikante Unterschiede zwischen dem intraindividuellen Proteinmuster der Speicheldrüsensekrete und des Gesamtspeichels und auch der Pellikel bestehen. Aufgrund dieser Beobachtungen wurde geschlossen, dass Gesamtspeichel eine Proteinmischung ist, die nicht nur von verschiedenen Quellen stammt, sondern dass diese Proteine in der Mundhöhle entscheidenden Modifikationsprozessen unterliegen (Yao et al. 2003). Vergleiche von inter- und intraindividueller Pellikel zeigen hingegen erstaunliche Übereinstimmung in der Zusammensetzung (Rykke et al. 1990, Yao et al. 2001, Siqueira et al. 2007). Man geht daher davon aus, dass die Pellikelbildung ein immer gleich bleibender Vorgang ist (Yao et al. 2001).

Die Pellikelbildung kann in zwei Phasen eingeteilt werden. Die erste Phase ist charakterisiert durch sofortige Adsorption von Speichelproteinen an die Schmelzoberfläche. Dieser initiale Adsorptionsprozess beginnt innerhalb von Sekunden und ist nach wenigen Minuten beendet. Die initial adsorbierte Pellikel bildet eine homogen strukturierte, feingranuläre Bedeckung der gesamten Schmelzoberfläche und erreicht nach 2-3 min eine Dicke von 10-20 nm, die für etwa 30 min gleich bleibt (Skjørland 1995, Hannig 1999, Hannig et al. 2004a).

„Pellicel-Vorläuferproteine“ sind Speichelproteine, welche eine hohe Affinität für Hydroxylapatit aufweisen. Diese Vorläuferproteine stammen von Komponenten des Gesamtspeichels (Yao et al. 2003, Hannig and Joiner 2006). Hay (1973) konnte zeigen, dass Speichelphosphoproteine, wie Statherin, Histatin, PRPs solche Vorläuferproteine sind. Der initiale Adsorptionsprozess lässt sich wie folgt erklären. Im Kontakt mit der wässrigen Elektrolytlösung des Speichels sind Kalziumionen eher bereit sich darin zu lösen als Phosphationen. Die so im Schmelz verbleibenden Phosphationen generieren eine negative Ladung über die gesamte Schmelzoberfläche. Als Folge davon lagern sich einerseits aufgrund der elektrostatischen Interaktionen zwischen der ionischen Doppelschicht (Kalzium- und Phosphationen) und andererseits aufgrund entsprechend geladener Proteingruppen, positiv geladene Proteine an. Zusätzlich zu diesen ionischen Wechselwirkungen tragen auch Van-der-Waals-Kräfte und hydrophobe Wechselwirkungen zur Proteinadsorption an die Schmelzoberfläche bei (Hannig and Joiner 2006). Die initiale Pellicelschicht, die in vivo in einem Zeitraum von 30s bis 3 min entsteht, weist mehr als 10 verschiedene Proteine auf: Muzine (MG I und MG II), Amylase, Histatin, Statherin, Cystatin, Lysozym, Laktoferrin, Glukosyltransferase, Karboanhydrase I und II (Vacca Smith and Bowen 2000).

Der raschen initialen Phase folgt eine sekundäre, vergleichsweise langsame Phase der Proteinadsorption auf die proteinbedeckte Schmelzoberfläche (Hannig 1999). Die zweite Phase der Pellicelbildung ist charakterisiert durch eine kontinuierliche Adsorption von Speichelbiopolymeren. Dieser Vorgang beinhaltet Protein-Protein Interaktionen zwischen bereits adsorbierten, immobilisierten Proteinen und zwischen Proteinen und Proteinaggregaten des Speichels (Hannig and Joiner 2006). Dabei nimmt die initiale Pelliceldicke um das

dreifache zu und erreicht ein weiteres Plateau nach 30-90 min (Sønju and Rølla 1973). Die Pellikeldicke ist abhängig von der Lokalisation ihrer Entstehung in der Mundhöhle (Amaechi et al. 1999a) und liegt nach 30 min zwischen 200 und 300 nm und nach 60 min zwischen 200 und 500 nm. Nach 2 h ist eine Pellikeldicke zwischen 200 und 700 nm zu erwarten (Hannig 1999). Aufgrund der raschen Zunahme der Pellikeldicke innerhalb von 30-90 min wird angenommen, dass eher eine Adsorption von Proteinaggregaten als eine Adsorption einzelner Proteine zum Pellikelwachstum beitragen (Hannig and Joiner 2006). Sønju und Rølla (1973) stellten fest, dass sich die gewonnene Pellikelmenge derselben Zahnoberfläche von Person zu Person unterscheidet. Die Pellikelentwicklung sollte deshalb als ein dynamisches System betrachtet werden, das kontinuierlichem Remodelling durch chemische oder enzymatische Modifikation der adsorbierten Proteine beeinflusst werden kann (Vacca Smith and Bowen 2000). Somit ist es nicht möglich eine exakte Pellikelbildungsrate oder eine endgültige Pellikeldicke zu definieren (Hannig 1999).

3.3.3 Pellikelzusammensetzung

Die Pellikel setzt sich aus Muzinen, Glykoproteinen und Proteinen zusammen, worunter die Hauptspeichelkomponenten Proteine und Glykoproteine sind (Hannig et al. 2005a, Hannig and Joiner 2006). α -Amylase, Lysozym, Peroxidase, Cystatin, Statherin, Albumin sind die am häufigsten vorkommenden Speichelenzyme, die in der in vivo gebildeten Pellikel in aktiver Form auftreten und werden durch die bakterielle Glukosyltransferase ergänzt (Yao et al. 2001, Hannig et al. 2008). In der Pellikel enthaltene Proteasen und Elastasen zeigen nur sehr geringe enzymatische Aktivität, da diese Enzyme durch die

Anwesenheit von Cystatin und Histatin gehemmt werden. Dies kann eine Selbstzerstörung der Pellikel vorbeugen (Hannig et al. 2008). Hannig et al. (2008) konnten ferner nachweisen, dass die Transglutaminase ein wichtiger Bestandteil der in vivo gebildeten Pellikel ist. Denn die Transglutaminase hat die Eigenschaft Pellikelvorläuferproteine wie Statherin, Cystatin, Histatin und saure PRPs miteinander zu verbinden, wodurch der Pellikel eine gewisse Festigkeit verliehen wird. Pellikel enthält mehrere Zucker, unter denen Glukose am häufigsten vertreten ist (Hannig and Joiner 2006). Mannose, Fukose, Glukosamine und Galaktosamine konnten ebenfalls in der Pellikelschicht festgestellt werden (Hannig and Joiner 2006). Höchstwahrscheinlich synthetisieren Glukosyltransferasen, die an die Pellikel adsorbieren, Glukane, welche die Hauptquelle der hohen Glukosekonzentration in der Pellikel sind (Hannig and Joiner 2006). Der Lipidgehalt der Pellikel wurde bis jetzt noch nicht gründlich genug untersucht, obwohl Lipide mit etwa 23% des Pellikeltrockengewichtes einen bedeutenden Bestandteil der in vivo gebildeten Pellikel ausmachen (Hannig and Joiner 2006).

Verschiedene Studien konnten zeigen, dass sich in vitro und in vivo gebildete Pellikel in ihrer Zusammensetzung voneinander unterscheiden (Carlén et al. 1998, Yao et al. 2001, Hannig et al. 2008). Der Hauptunterschied findet sich in der geringeren Prolinmenge, was vereinbar ist mit einer Reduktion saurer PRPs in der Aminosäurezusammensetzung der in vivo gebildeten Pellikel. Beide Beobachtungen bekräftigen die Annahme, dass PRPs unter in vivo Bedingungen eher fragmentiert werden (Yao et al. 2001). Das heisst, dass gewisse Reifungsprozesse nur während der in vivo Pellikelbildung ablaufen können, die sichtbaren Einfluss auf die Pellikelzusammensetzung haben. Die in vitro gebildete Pellikel weist mehr intakte Speichelproteine auf als die in vivo gebildete Pellikel (Hannig

et al. 2008). Aus dieser Beobachtung kann man schliessen, dass sich die in vivo gebildete Pellikel aus Bestandteilen zusammensetzt, welche durch vielfältige enzymatische und somit inaktivierende Veränderungen entstehen. Deshalb spiegelt die Pellikelbildung in vitro nicht exakt denselben Prozess wider, der sich in der Mundhöhle abspielt (Yao. et al. 2001).

Obwohl Sønju und Rølla (1973) keine Unterschiede in der Aminosäurezusammensetzung der Pellikel zwischen den oberen Molaren, den oberen Inzisiven und den unteren Inzisiven feststellten, konnte eine neuere Studie von Carlén et al. (1998) zeigen, dass das gesamte Proteinmuster der Pellikel von verschiedenen Stellen der Dentition unterschiedliche Charakteristika zum Vorschein bringen. Die Pellikelzusammensetzung ist typisch für den Speichel, der in diesem Teil des Mundes überwiegt, in dem die Pellikel gebildet wird. Dies deutet darauf hin, dass die lokal zu Verfügung stehenden Speichelbiopolymere wichtig sind für die Pellikelbildung und für deren Zusammensetzung.

3.3.4 Pellikeigenschaften

Die Pellikel erfüllt folgende Aufgaben: Bildung eines Lubrikationsfilmes auf allen oralen Hart- und Weichgeweben, Neutralisation bakterieller Säuren, Reservoir für remineralisierende Elektrolyte, Bildung einer semipermeablen Membran, die den De- und Remineralisationsprozess reguliert, antimikrobielle Eigenschaften und Modulation der initialen mikrobiellen Flora auf der Zahnoberfläche (Hannig et al. 2005a, Siqueira et al. 2007).

Alle Hart- und Weichgewebe der Mundhöhle sind ständig von einem Speichelfilm bedeckt. Diese Flüssigkeitsschicht erleichtert den Kau-, Sprech- und Schluckvorgang (Humphrey and Williamson 2001, Hannig and Joiner 2006). Die lubrifizierenden Speichелеigenschaften werden den mukösen Glykoproteinen (MG I und MG II) zugeschrieben (Mandel 1987, Humphrey and Williamson 2001, Hannig and Joiner 2006). Muzine sind hochmolekulare Glykoproteine, die normalerweise mehr als 50% Kohlenhydrate in Form von Oligosaccharidketten enthalten (Tabak et al. 1982), wodurch sie effizient Wasser binden können und die darunter liegenden Gewebe feucht halten (Mandel 1987, Tabak 1990). Muzine weisen niedrige Löslichkeit, hohe Viskosität, hohe Elastizität und starke Haftung auf. Deshalb können sich Muzine auf oralen Schleimhautoberflächen zusammenlagern und eine Barriere gegen Austrocknung der Schleimhäute durch Mundatmung bilden. Zudem schützen sie die oralen Weichgewebe effizient vor dem Eindringen verschiedenster Reizstoffe und Toxine, die in Lebensmitteln auftreten und auch vor Tabakkarzinogenen (Mandel 1987, Humphrey and Williamson 2001). Bakterielle Proteasen (Elastase, Kollagenase, Cathepsin) können die Schleimhautintegrität angreifen und Ulzerationen verursachen. Auch in dieser Beziehung

haben Muzine protektive Eigenschaften, da ihre glykosylierten Regionen sehr resistent gegenüber Proteolyse sind. Das klassische Beispiel dafür ist das Magenmucin, das sogar einen Schutz gegen grosse Pepsinmengen bietet (Mandel 1987).

Zahnhartsubstanzen werden demineralisiert, wenn Säuren durch die Plaque und die Pellikel in die wässrige Schmelzphase zwischen den Schmelzkristallen diffundieren. Herausgelöste Mineralien wandern anschliessend aus der Zahnstruktur in den Speichel aus (Humphrey and Williamson 2001). Durch das Mineralangebot des Speichels und die Pufferkapazität kann der Plaque-pH-Wert beeinflusst und gesteigert werden, so dass die Demineralisation reduziert und die Remineralisation gefördert wird (Humphrey and Williamson 2001, Hellwig et al. 2007). Pellikelproteine haften auf der Schmelzoberfläche und helfen das Kristallwachstum des Schmelzes zu regulieren, indem sie das Eindringen von Mineralien aus dem Speichel in den Schmelz für die Remineralisation unterstützen und die Auswanderung von Mineralien unterbinden (Humphrey and Williamson 2001, Hannig and Joiner 2006, Siqueira et al. 2006).

Auch der Schutz vor erosiven Säuren wird in Zusammenhang mit der Pellikeldicke gebracht (Amaechi et al. 1999a). Dabei scheint das schützende Potenzial der Pellikel nicht nur von der Dicke, sondern auch von der Zusammensetzung abhängig zu sein. Die in der Pellikel gebundene Speichelkarboanhydrase behält ihre enzymatische Aktivität. Die Karboanhydrase katalysiert die reversible Reaktion $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \leftrightarrow \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$. Deshalb kann angenommen werden, dass die Karboanhydrase in der Pellikelschicht die Säureneutralisation beschleunigt und dadurch zum Schutz der Schmelzoberfläche vor Demineralisation beitragen kann (Hannig and Joiner 2006).

Pellikelproteine wie Cystatin, Lysozym, Laktoferrin, Peroxidase, Calgranulin A und B weisen zudem antimikrobielle Aktivität auf. Interessanterweise werden einige dieser Proteine erst nach ihrer Bindung an Kalzium oder Phosphat aktiviert (Siqueira et al. 2007).

Die Pellikel bietet auf ihrer Oberfläche Rezeptoren für Bakterien an, die entscheidend sind für die initiale Phase der Plaquebildung (Yao et al. 2001, Hannig and Joiner 2006). Die Pellikel bestimmt so über die Zusammensetzung der initialen adhärierenden Mikroorganismen, die letzten Endes den oralen Biofilm und die ausgereifte Plaque bilden (Siqueira 2006).

3.4 Erosion

3.4.1 Definition

Dentale Erosionen sind als der durch Säure verursachte oberflächliche und irreversible Zahnhartsubstanzverlust definiert, der ohne die Beteiligung von Mikroorganismen auf plaquefreien Zahnoberflächen entsteht (Zipkin and Mc Clure 1949, Addy and Shellis 2006). Es handelt sich um eine chemische Demineralisation, wobei die Zahnoberfläche schichtweise durch Säuren und / oder Chelatoren weggeätzt wird (Imfeld and Imfeld 2005).

Ohne Mitwirkung von Mikroorganismen können drei Prozesse zu Zahnhartsubstanzverlust führen: Abrasion, Attrition und Erosion (Addy and Shellis 2006). Abrasion ist definiert als pathologischer Zahnhartsubstanzverlust durch mechanische, Fremdkörper verursachte Kräfte, zum Beispiel exzessives Zähneputzen (Jaeggi et al. 1999, Addy and Shellis 2006). Attrition ist definiert als Abrieb der

Zahnhartsubstanzen durch direkten Kontakt antagonistischer Zähne ohne Fremdkörpereinfluss (Addy and Shellis 2006, Hellwig et al. 2007). Solche Abnutzungsmechanismen treten selten allein auf, sondern beeinflussen sich gegenseitig. Häufig überlagern sich erosive und abrasive Prozesse, was eine eindeutige Zuordnung zu einem Läsionstyp erschwert oder verunmöglicht (Lussi et al. 2005). Da initiale erosive Läsionen eine leichte Abnahme der Schmelzhärte zeigen, können Abrasion und Attrition unmittelbar nach Säureexposition grösseren Substanzverlust verursachen als ohne erosive Vorschädigung (Zimmer 1998, Lussi and Jaeggi 2002, Lussi et al. 2005).

3.4.2 Ätiologie und klinisches Bild der Erosion

Erosionen werden durch Säuren extrinsischen oder intrinsischen Ursprungs ausgelöst (Ten Cate and Imfeld 1996, Lussi and Jaeggi 2001, Zero and Lussi 2005).

Extrinsische Faktoren umfassen den häufigen Konsum saurer Lebensmittel, wie kohlesäurehaltige Getränke, Sportgetränke, Rot- und Weisswein, Zitrusfrüchte. Auch eine beruflich bedingte Säureexposition kann zu einer exogen induzierten Erosion führen (Lussi et al. 2005, Zero and Lussi 2005). Zu den intrinsischen Faktoren zählen Erkrankungen die mit dem Auftreten von saurem Mageninhalt einhergehen, wie zum Beispiel Anorexia und Bulimia nervosa, chronische Magendarmstörungen, Alkoholabusus (Lussi et al. 2005, Zero and Lussi 2005).

Faziale und okklusale Erosionen entstehen vorwiegend durch extrinsische Säurezufuhr (Lussi and Jaeggi 2001). Das typische Verteilungsmuster der Erosionen im Zahnbogen infolge intrinsischer Säureangriffe entspricht dem Weg des Erbrochenen über den Zungenrücken. Während im Oberkiefer alle Palatinal- und Okklusalfächen erodiert

werden, bleiben die Bukkalflächen unberührt. Im Unterkiefer befindet sich der neutralisierende Speichelsee, und die Lingualflächen werden zusätzlich durch die Zunge abgedeckt, sodass die Unterkieferzähne nur okklusal und bukkal angeätzt werden (Imfeld and Imfeld 2005). Das charakteristische klinische Bild initialer Schmelzerosionen ist der minimale, flächenhafte Verlust der Oberflächensubstanz, wobei der ehemalige Glanz auf Glattflächen verloren geht (Lussi and Jaeggi 2002). Nach anhaltender Säureexposition flachen die konvexen Regionen ab. Es entstehen seichte Konkavitäten, die koronal der Schmelz-Zement-Grenze lokalisiert sind und einen intakten Schmelzrand entlang des Gingivasaumes behalten. Grund für dieses konservierte Schmelzband können einerseits Plaquereste, die als Diffusionsbarriere für Säuren agieren und andererseits die Sulkusflüssigkeit sein, die mit ihrem pH-Wert zwischen 7.5 und 8 zur Neutralisation der Säuren im Gingivabereich führt (Lussi et al. 2005, Ganss and Lussi 2006). Okklusal führen Erosionen sowohl zu abgerundeten Höckern mit Eindellungen, die bis ins Dentin reichen können, als auch zu Füllungen, die über das Niveau der Zahnhartsubstanz hinausragen (Lussi et al. 2005). In schweren Fällen verliert sich die Zahnmorphologie, und die vertikale Kronenhöhe reduziert sich deutlich (Ganss 2006). Bei erosiv bedingtem Zahnhartsubstanzverlust finden sich nur runde und keine schafkantigen Zahnkonturen (Imfeld and Imfeld 2005). Dies unterscheidet die Erosion von der Attrition, die man anhand glatter, planer, glänzender und scharf begrenzter Zahnflächen erkennt. Diese sogenannten Schliffacetten treten typischerweise an Antagonistenpaaren auf (Hellwig et al. 2007, Ganss and Lussi 2006).

3.4.3 Pathophysiologie der Erosion

Wasserstoffionen (H^+) und kalziumbindende Anionen, so genannte Chelatoren, sind die ursächlichen Säurebestandteile, welche zur Entstehung dentaler Erosionen führen (Featherstone and Lussi 2006). Protonen können die Mineralkristalle der Zähne auflösen, indem sie mit Karbonat- oder Phosphationen interagieren (Featherstone and Lussi 2006). Dadurch nimmt die freie Protonenkonzentration in der Lösung ab und der lokale pH-Wert steigt an (Lussi 2006). Die Säurestärke wird durch den pKa-Wert beschrieben, welcher der negative Logarithmus der Dissoziationskonstante (K_a -Wert) ist. Wenn der pH-Wert einer Lösung gleich dem pK_a -Wert der Säure ist, so liegt die Säure zu 50% als Anion und zu 50% als undissoziiertes Säuremolekül vor, welche der Lösung weitere Protonen liefern.

Sowohl bakterielle Plaque als auch Speichelpellikel bilden eine Diffusionsbarriere und bieten der Schmelzoberfläche einen gewissen Schutz gegen einen direkten Säureangriff (Featherstone and Lussi 2006). Eine Säure muss zuerst durch die Plaque- und Pellikelschicht diffundieren, bevor sie in direkten Kontakt mit der Zahnoberfläche kommt (Featherstone and Lussi 2006, Lussi 2006). An der Schmelzoberfläche löst die Säure zuerst die Prismenscheiden und dann das Prismenmark auf, wodurch das typische Honigwabenmuster entsteht. Frische Säure diffundiert dann über den interprismatischen Schmelz in tiefere Gebiete und löst dort Mineralien unter der Zahnoberfläche auf (Lussi 2006). Im Dentin ist wegen des hohen Gehaltes an organischem Material sowohl das Eindringen der Säuren ins Dentin als auch der Mineralfluss aus dem Dentin hinaus erschwert (Zero and Lussi 2005). Die Erosion beginnt im peritubulären Dentin, was zur Erweiterung der Dentintubuli führt. Insbesondere schnelles Fortschreiten erosiver

Prozesse kann zu Dentinhypermensibilitäten führen, weil die Tertiärdentinbildungsrate nicht mit dem oberflächlichen Gewebeverlust mithalten kann (Ten Cate and Imfeld 1996).

Der Erosionsprozess kann in zwei Stadien eingeteilt werden. Der initiale Säureangriff führt zur partiellen Demineralisation einer wenigen Mikrometer dicken Schmelzschicht, was eine Erweichung der Oberfläche und Verringerung der Schmelzhärte zur Folge hat. In diesem Stadium ist Remineralisation möglich, da vorhandene Schmelzanteile als Gerüst dienen, in welches Mineralien eingelagert werden können (Lussi et al. 2005, Addy and Shellis 2006). Wenn sich dieser Vorgang über längere Zeit wiederholt und sich weiter in den Schmelz vorarbeitet, löst sich die oberflächlichste Schmelzschicht vollständig auf (Addy and Shellis 2006). Daher ist eine Remineralisation dieser Schmelzanteile nicht mehr möglich.

3.4.4 Modifizierende Faktoren

Das Ausmass einer Erosion wird von unterschiedlichen chemischen und biologischen Faktoren und Verhaltensmustern modifiziert (Tab. 3.2).

Chemische Faktoren	<ul style="list-style-type: none">- pH-Wert und Pufferkapazität eines Produktes- Art der Säure (pK_a-Wert)- Adhäsion des Produktes an die Zahnoberfläche- Chelatierende Eigenschaften des Produktes- Kalziumkonzentration- Phosphatkonzentration- Fluoridkonzentration
---------------------------	---

Biologische Faktoren	<ul style="list-style-type: none"> - Speichel: Fließrate, Zusammensetzung, Pufferkapazität, pH-Wert, Stimulationskapazitt - Pelikel: diffusionslimitierende Eigenschaften, Zusammensetzung, Reifungszeit, Dicke - Zahnanatomie und Okklusion - Anatomie oraler Weichteile in Bezug zu den Zähnen - Physiologische Weichteilbewegungen
Verhaltensfaktoren	<ul style="list-style-type: none"> - Ungewöhnliche Ess- und Trinkgewohnheiten - Gesnderer Lebensstil: Diäten mit hohem Konsum von sauren Früchten und Gemüse - Ungesunder Lebensstil: häufiger Konsum von Alcopops und Designerdrogen - Alkoholismus - Exzessiver Konsum saurer Getränke und Nahrungsmittel - Nächtliche Babyflaschenernhrung mit sauren Getränken - Mundhygienepraktiken - Probleme mit Magen-Darm-Trakt (Reflux, Anorexie, Bulimie) - Medikamentenkonsum - Berufsbedingte Säureeinwirkung

Tab. 3.2. Modifizierende Faktoren für die Entstehung von Erosionen (Lussi et al. 2005, Lussi and Jaeggi 2006, Hara et al. 2006a, Zero and Lussi 2006)

Die chemischen Faktoren beschreiben das erosive Potenzial eines Lebensmittels. Für das erosive Potenzial ist nicht nur der pH-Wert entscheidend, sondern auch die Art der Säure, die Pufferkapazität, die Anwesenheit von Chelatoren, die Kalzium-, Phosphat- und Fluoridkonzentration (Lussi et al. 2005, Lussi and Jaeggi 2006).

Da der Mineralsättigungsgrad einer Lösung im Verhältnis zur Mineralkonzentration der Zahnhartsubstanzen die treibende Kraft für De- oder Remineralisation ist, gibt es keinen klar definierten, kritischen pH-Wert, unterhalb dessen Erosionen auftreten (Lussi and Jaeggi 2006). Deshalb können selbst bei tiefen pH-Werten andere Faktoren stark genug sein, um eine Demineralisation zu vermeiden (Lussi and Jaeggi 2006). Da zum Beispiel Joghurt eine kalzium- und phosphatübersättigte Lösung im Verhältnis zu Hydroxylapatit ist, kann es trotz seines tiefen pH-Werts (~ 4) keine Erosionen verursachen (Lussi et al. 2005, Lussi and Jaeggi 2006). So zeigen auch Kalzium- und Phosphatzusätze zu sauren, erosiven Getränken eine protektive Wirkung gegen Erosionen (Lussi and Jaeggi 2006).

Je grösser die Pufferkapazität eines Lebensmittels ist, desto grösser ist der Auflösungsprozess, weil mehr Karbonat- und Phosphationen benötigt werden, um die Säure für weitere Demineralisation zu inaktivieren (Zero and Lussi 2005, Lussi and Jaeggi 2006). Der erosive Vorgang kann nur gestoppt werden, wenn keine neue Säuren und / oder Chelatoren zugeführt werden (Lussi 2006).

Kalziumbindende Eigenschaften vergrössern das Erosionspotenzial von Säuren (wie z. B. Zitronensäure) indem die Chelatoren sowohl Kalziumionen direkt aus gelöster Zahnhartsubstanz als auch aus dem Speichel binden können (Lussi and Jaeggi 2006). Durch Chelatoren gebundenes Kalzium steht nicht mehr für die Remineralisation der

Zähne zur Verfügung, und die Lösung ist gegenüber Hydroxylapatit untersättigt, wodurch die treibende Kraft für die Demineralisation zunimmt (Lussi and Jaeggi 2006).

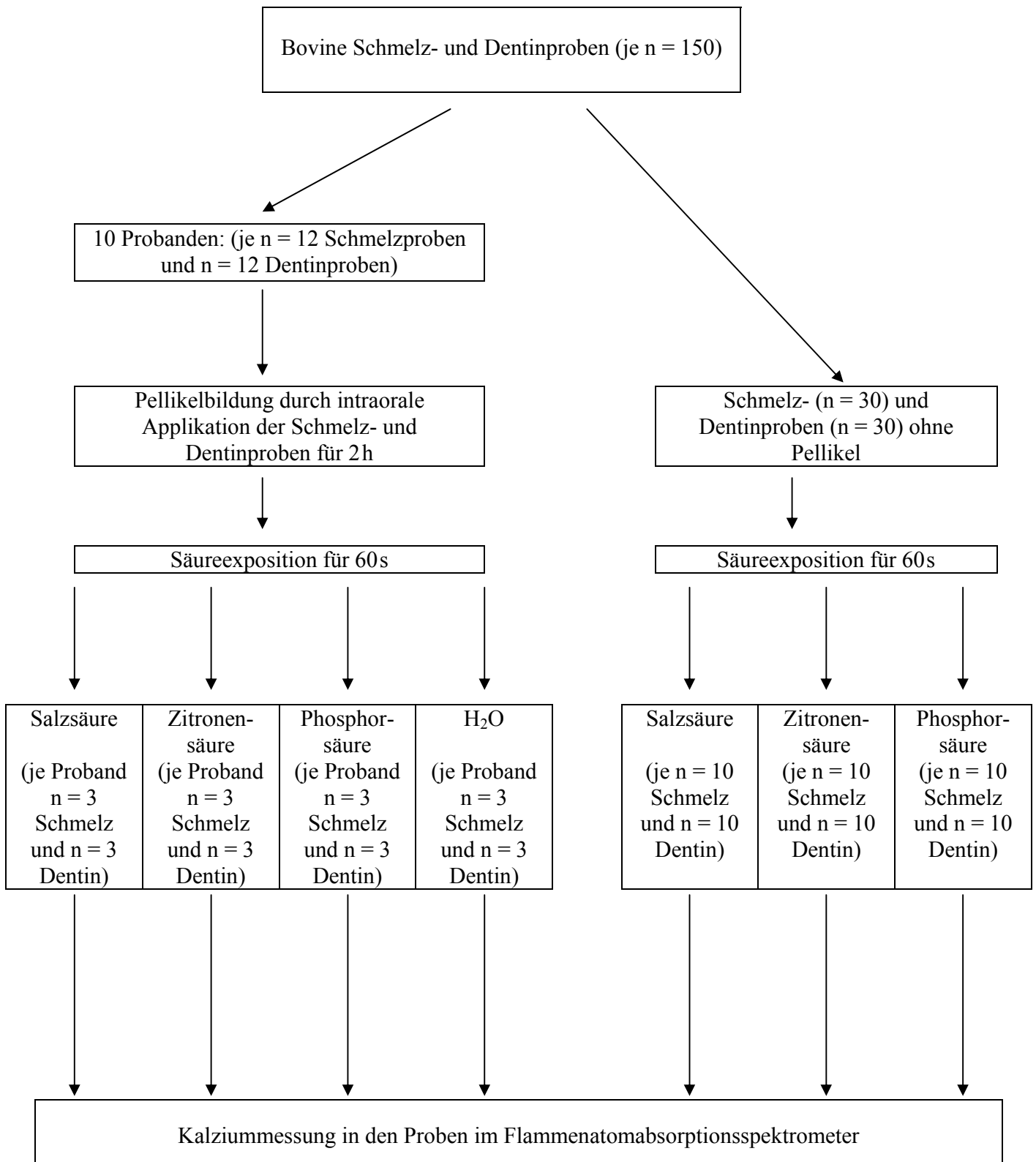
Biologische Faktoren beschreiben die Fähigkeit eines Individuums, mit denen es seine Zähne gegen erosive Säureangriffe schützen kann. Dazu gehören Speichelflussrate, Speichelzusammensetzung, Zahnanatomie und Okklusion, Anatomie oraler Weichteile und ihren Bezug zu den Zähnen und physiologische Weichteilbewegungen (Zero and Lussi 2005).

Während und nach einem Säureangriff spielen Verhaltensfaktoren eine wichtige Rolle bei der Modifikation des Erosionsausmasses (Zero and Lussi 2006). Die Art, wie diätetische Säuren dem Mund zugeführt werden (schnelles Schlucken, Nippen, Trinken mit Strohhalm), entscheidet darüber, wie lange und welche Zähne mit der Säure in Kontakt stehen. Die Häufigkeit und Dauer der erosiven Säureexposition ist von grosser Bedeutung. Werden Getränke im Mund gehalten bevor sie geschluckt werden, verursacht dies einen signifikanten Abfall des pH-Wertes an der Zahnoberfläche und erhöht so das Erosionsrisiko (Zero and Lussi 2006).

Ferner können Medikamente mit tiefem pH-Wert und grossen Mengen titrierbarer Säuren, die regelmässig und über eine längere Zeit konsumiert werden, zu Erosionen führen. Dazu gehört die chronische Verwendung von Aspirin- und Vitamin C Kau- oder Brausetabletten (Hellwig and Lussi 2006). Gewisse Medikamente können das Erosionsrisiko auch dadurch erhöhen, dass sie die Speichelflussrate und die Speichelpufferkapazität reduzieren (zum Beispiel Beruhigungsmittel, Antihistaminika, Antiemetika) (Hellwig and Lussi 2006).

4 Versuchsplanung

Je 12 sterilisierte, bovine Schmelz- und Dentinproben werden für 2 h intraoral von 10 gesunden Probanden getragen, um eine Pellikel auf der Probenoberfläche zu etablieren. Eine Stunde vor und während des Versuchs findet keine Nahrungs- und Flüssigkeitsaufnahme sowie Mundhygienemassnahmen statt. Bei allen Probanden wird vor Versuchsbeginn die Menge des unstimulierten und stimulierten Speichels, der pH-Wert und die Pufferkapazität bestimmt. Nach 2 h intraoraler Exposition werden die Proben für 60 s in je 1 ml Salzsäure, Zitronensäure, Phosphorsäure (pH-Wert: 2.6) oder 1ml entionisiertem Wasser (pH-Wert: 5.8) gelagert. Je 10 Schmelz- und Dentinproben ohne Pellikel werden ebenfalls für 60 s in 1 ml Salzsäure, Zitronensäure oder Phosphorsäure (pH-Wert: 2.6) gelagert. Anschliessend wird die Kalziumkonzentration der Säure mit Hilfe eines Flammenatomabsorptionsspektrometers bestimmt, um den erosiven Substanzverlust von Schmelz und Dentin zu ermitteln.



5 Material und Methode

5.1 Herstellung der Schmelz- und Dentinproben

Für diese Studie wurden Schmelz- und Dentinproben aus bovinen, extrahierten Unterkieferfrontzähnen gewonnen. Nach ihrer Extraktion wurden die Zähne gereinigt und unter Verwendung einer diamantierten Trennscheibe (Buehler LTD., Evanston, Illinois U.S.A.) auf Höhe der Schmelz-Zementgrenze geteilt. Mit Hilfe von diamantbelegten, wassergekühlten Bohrern (rostfreier Stahlträger, 50 µm diamantierte Beschichtung bei Intensiv SA, Grancia, Schweiz) wurden sowohl aus den Zahnkronen als auch aus den Zahnwurzeln zylindrische Bohrkerne mit einem Durchmesser von 2,8 mm gewonnen. Diese wurden in Kunststoff (Paladur[®], Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland) eingebettet, so dass die stirnseitige Oberfläche der Schmelz- oder Dentinproben etwa 1mm über das Niveau des Einbettkunststoffes hinausragte. Der auf der Probenhinterseite entstandene Paladurüberschuss wurde mit einer dreizahnigen Kunststofffräse (8 mm Durchmesser, Garant) entfernt. Mit einem Schwingschleifer und Schleifpapier (Struers, Waterproof Silicon Carbide Paper) in aufsteigender Körnung (1200, 2400, 4000) wurden die Proben auf das Niveau der Einbettmasse (Paladur[®], Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland) heruntergeschliffen und hochglanzpoliert. Einige Proben wiesen auf der Hinterseite eine freiliegende Schmelz- oder Dentinfläche auf. Diese wurden mit Tetric[®]Flow (Ivoclar Vivadent AG, Schaan, Fürstentum Liechtenstein) abgedeckt. Insgesamt wurden 300 Schmelz- und Dentinproben (je n = 150) hergestellt, die durch γ -Strahlen mit 12 kGy sterilisiert wurden (Paul Scherrer Institute, Laboratory for Materials Behaviour, Hot Cell Experiments, Villigen, Schweiz). Bis zu ihrer Verwendung in situ wurden die Proben in 0.9%iger NaCl-Lösung in sterilen Röhrchen gelagert.

Zweihundertvierzig Schmelz- und Dentinproben (je $n = 120$) wurden dann für die in situ Versuche und 60 Schmelz- und Dentinproben (je $n = 30$) für die in vitro Versuche benutzt.

5.2 Herstellung der intraoralen Apparaturen

Für die Fixierung der Schmelz- und Dentinproben im Mund der Probanden wurden individuelle weichbleibende Tiefziehschienen (Erkodent[®], Erich Kopp GmbH, Pfalzgrafenweiler, Deutschland) hergestellt.

Zunächst wurde von den Probanden mit Alginate (Heraeus Kulzer GmbH, Hanau, Deutschland) eine Oberkieferabformung vorgenommen, die dann mit Gips (Snow white, Kerr Italia, Scafati, Salerno-Italien) ausgegossen wurde. Auf dem Gipsmodell wurden 4 Proben in der Regio 14/16 und 24/26 und fixiert. Danach wurde darüber eine Tiefziehschiene hergestellt (Erkodent[®], Erich Kopp GmbH, Pfalzgrafenweiler, Deutschland). Im Folgenden konnten die vestibulären, auf den Proben liegenden Anteile der Tiefziehschiene weggeschnitten werden, so dass die Proben in dento-vestibulärer Richtung aus ihrer Halterung herausgeschoben werden konnten. Die Tiefziehschiene wurde auf der vestibulären Seite so zurückgeschnitten, dass noch ein 1-2 mm breiter Saum die Gingiva bedeckte. Auf palatinaler Seite wurde anatomisch gekürzt (Abb. 5.1)



Abb. 5.1. Intraorale Apparatur mit Schmelz- und Dentiproben

5.3 Auswahl der Probanden und Probandenkalibrierung

An dieser Studie nahmen 10 gesunde Probanden (8 weiblich, 2 männlich) zwischen 21 und 66 Jahren teil. Alle Probanden waren Nichtraucher und wiesen keine Allgemeinerkrankungen auf. Es nahmen nur Probanden teil, die keine Prothesen oder kieferorthopädische Apparaturen wie festsitzende Brackets trugen und bei denen Karies oder parodontale Erkrankungen ausgeschlossen werden konnten. Vor Beginn der Untersuchung wurde die Erlaubnis der Ethik-Kommission der Universität Zürich

eingeholt (Nummer des Votums 07/11). Zur Standardisierung verwendeten die Probanden während der gesamten Versuchszeit die gleichen Zahnbürsten (paro[®] toothbrush, Art.9 705 sPez, Borsten 0.15 mm/6mils, Esro AG, Kilchberg, Schweiz) und Zahnpasten (Elmex[®] rot, GABA AG, Therwil, Schweiz).

5.4 Speichelparameter der Probanden

Von jedem Probanden wurde vor jedem Versuchszyklus für 5 min die Fließrate unstimulierten und paraffinstimulierten (Orion Diagnostica, Espoo, Finnland) Speichels bestimmt. Diese Bestimmung erfolgte bei allen Probanden morgens zwischen 8:00 und 11:00 Uhr und wurde 1 h nach der letzten Nahrungs-/Flüssigkeitsaufnahme und Mundhygienemassnahmen durchgeführt. Der pH-Wert wurde mit einem pH-Meter (Metrohm 605 pH-Meter, Metrohm Herisau, Schweiz) erfasst. Die Pufferkapazität wurde durch kontinuierliches hinzupipettieren von 0.1 mol/l Salzsäure (HCl) zur Speichelprobe auf einen pH-Wert von 5.7 ermittelt und daraus der Salzsäureverbrauch pro Milliliter Speichel errechnet.

5.5 Versuchsablauf

Jeder Proband nahm an 6 Versuchszyklen teil, bei welchen jeweils $n = 2$ Schmelz- und $n = 2$ Dentinproben für 2 h intraoral getragen wurden, um eine Pellikel zu etablieren. Die letzte Nahrungs-/Flüssigkeitsaufnahme und Mundhygienemassnahmen fanden mindestens 1 h vor dem entsprechenden Versuchszyklus statt.

Die weichbleibende Tiefziehschiene wurde mit je 2 sterilisierten Schmelz- und Dentinproben bestückt und vor dem Einsetzen mit entionisiertem Wasser befeuchtet.

Während der intraoralen Exposition der Proben (2 h) fanden keine Nahrungs-/Flüssigkeitsaufnahme oder Mundhygienemassnahmen statt. Danach wurde jede Probe mit je 1 ml Salzsäure, Zitronensäure oder Phosphorsäure für 60 s erodiert. Dazu wurde jede Probe in ein Eppendorfröhrchen gelegt, in welches 1 ml der entsprechenden Säure zugegeben wurde. Die Röhrchen wurden 60-mal pro min um 180° gedreht. Zur Kontrolle wurden je 10 Schmelz- und Dentinproben ohne Pellikel ebenfalls mit Salzsäure, Zitronensäure oder Phosphorsäure erodiert.

5.6 Atomabsorptionsspektroskopie

Nach der 60 s dauernden Erosion wurden 0.5 ml der Säure in ein Reagensglas pippetiert, in welches anschliessend 1.5 ml Strontiumchlorid und 2.5 ml entionisiertes Wasser zugefügt wurden. Diese Lösung wurde der Flammenatomabsorptionsspektrometrie zugeführt.

Die Atomabsorptionsspektroskopie (AAS, PerkinElmer AG, Schwerzenbach, Schweiz) ist eine Methode zur Bestimmung der Konzentration eines Elements in einer Substanz. Sie beruht auf der Messung der Strahlungsenergie, die von den Atomen des in der Substanz enthaltenen Elements nach dem Verdampfen absorbiert wird. Die Messung erfolgt bei der Wellenlänge einer für das betreffende Element charakteristischen Absorptionslinie (Europäische Pharmakopöe 2002). Für die Kalziumbestimmung der Proben wurden die Standardeinstellungen am AAS-Gerät gewählt. Dafür wurde mit einer hohlkathoden Lampe bei einer Wellenlänge von 423 nm, einer Schlitzöffnung von 0.7 nm und mit einer Sauerstoff-Acetylen-Flamme gemessen. Es wurden drei Messungen von

jeweils 3 s durchgeführt, von welchen dann der Mittelwert berechnet und weiterverwendet wurde.

5.7 Statistische Auswertung

Es wurde der durchschnittliche Kalziumverlust ($\mu\text{g Ca/ml Säure}$) der „Pellikel-freien“ und „Pellikel-bedeckten“ Schmelz- und Dentinproben nach deren Behandlung mit Salzsäure, Phosphorsäure, Zitronensäure oder Wasser berechnet. Die Daten wurden mit Hilfe einer zwei-faktoriellen ANOVA statistisch analysiert. Sowohl in Hinblick auf die Anwesenheit einer Pellikel als auch auf die Art der Säure wurden Schmelz- und Dentinproben getrennt als unabhängige Variablen betrachtet. Gruppenvergleiche führte man mit einem Tukey's Test durch.

Die durchschnittliche prozentuale Reduktion des Kalziumverlustes für Schmelz- und Dentinegruppen, welche der Anwesenheit der Pellikel zuzuschreiben ist, wurde für jeden Probanden einzeln berechnet, indem der durchschnittliche Kalziumverlust mit der jeweiligen „Pellikel-freien“ Gruppe verglichen wurde. Um mögliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Säuren und zwischen Schmelz- und Dentinschutz zu analysieren, wurde eine zwei-faktorielle ANOVA gefolgt durch den Tukey's Tests angewandt. Zum Schluss wurde der durchschnittliche Kalziumverlust (% der jeweiligen „Pellikel-freien“ Gruppe) der drei verschiedenen Säuren integriert, um den gesamten Schmelz- und Dentinschutz durch die Anwesenheit einer Speichelpellikel zu vergleichen. Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha = 0.05$ festgelegt.

Die Analyse wurde mit dem Graph Pad Prism 4 Software durchgeführt (San Diego, Calif. USA).

6 Ergebnisse

In allen Schmelz- und Dentinegruppen zeigten „Pellikel-bedeckte“ Proben signifikant verminderten Kalziumverlust verglichen zu „Pellikel-freien Proben“ (Abb. 6.1 und 6.2, Tab. 6.3).

6.1. Ergebnisse der Schmelzproben

Für Schmelzproben zeigte die zwei-faktorielle ANOVA einen signifikanten Unterschied ($p < 0.0001$) sowohl zwischen den Faktoren „Pellikel-frei“ und „Pellikel-bedeckt“ als auch zwischen den verschiedenen Säuren. Die Wechselwirkung zwischen den Kriterien (Vorhandensein der Pellikel und Art der Säure) war signifikant ($p = 0.007$). „Pellikel-bedeckte“ Proben zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen den unterschiedlichen Säuregruppen. Im Gegensatz dazu zeigten „Pellikel-freie“ Proben einen signifikant höheren Kalziumverlust durch Erosion mit Zitronensäure als durch Erosion mit Salz- und Phosphorsäure (Abb. 6.1).

Die Einzelwerte der atomadsorptionsspektrometrischen Kalziummessungen der „Pellikel-bedeckten“ Schmelzproben sind in Tabelle 6.4 aufgeführt. Der Tabelle 6.5 können die Einzelwerte der atomadsorptionsspektrometrischen Kalziummessungen für die Kontrollen der Schmelzproben entnommen werden. Ein Vergleich der Mittelwerte aus den Tabellen 6.4 und 6.5 zeigt, dass die „Pellikel-bedeckten“ Schmelzproben einen niedrigeren Kalziumverlust aufweisen als die Kontrollen der Schmelzproben.

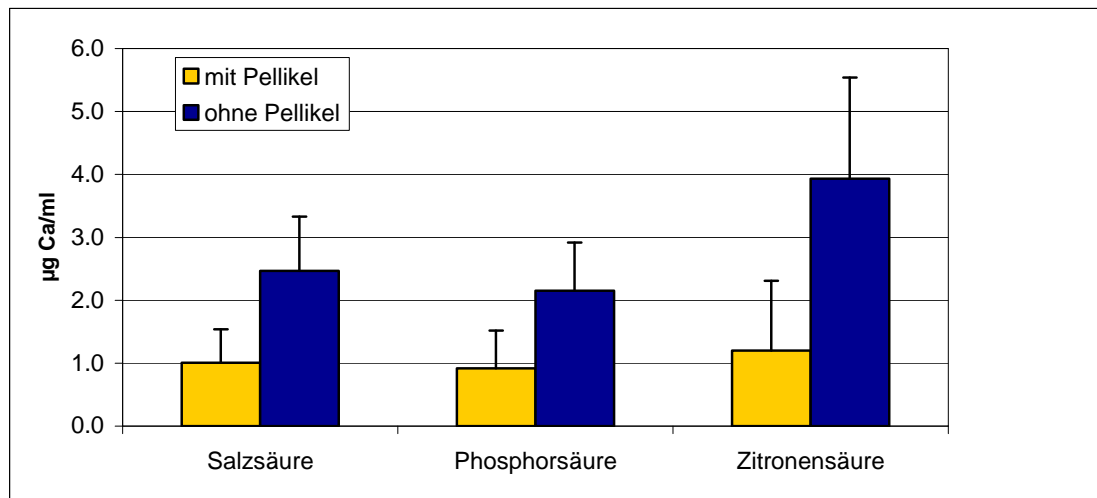


Abb. 6.1. Mittelwerte und Standardabweichung des Kalziumverlustes ($\mu\text{g Ca/ml}$) in „Pellikel-bedeckten“ und „Pellikel-freien“ Proben. In allen Säuregruppen zeigten „Pellikel-bedeckte“ Proben einen signifikant geringeren Kalziumverlust als „Pellikel-freie“ Proben.

Proband	Salzsäure pH 2.6	Zitronensäure pH 2.6	Phosphorsäure pH 2.6
	$\mu\text{g Ca/ ml}$	$\mu\text{g Ca/ ml}$	$\mu\text{g Ca/ ml}$
1	1.37	1.01	0.87
	1.72	2.61	0.54
	1.08	0.89	1.16
2	0.87	1.33	0.87
	1.33	1.16	0.78
	1.17	1.76	0.55
3	1.33	0.87	1.37
	0.87	5.87	0.29
	0.15	1.62	1.02
4	1.10	1.10	1.60
	1.10	1.97	1.29
	0.92	0.49	1.47

5	1.29	1.29	0.49
	0.92	0.74	0.64
	0.00	0.49	0.32
6	1.13	2.57	0.13
	1.29	0.94	1.31
	1.02	0.13	1.45
7	1.29	0.37	2.76
	0.37	0.87	0.29
	0.44	0.44	0.73
8	0.58	0.44	1.02
	0.58	1.45	0.29
	0.86	0.00	0.43
9	1.13	0.96	2.32
	0.59	1.74	0.95
	1.09	0.73	0.68
10	2.89	1.77	0.40
	0.48	0.27	1.02
	1.31	0.13	0.58
Mittelwert	1.01	1.20	0.92
Stabw	0.53	1.11	0.60

Tab. 6.4. Einzelergebnisse der atomadsorptionsspektrometrischen Kalziummessungen der „Pelikel-bedeckten“ Schmelzproben.

	Salzsäure pH 2.6	Zitronensäure pH 2.6	Phosphorsäure pH 2.6
	µg Ca/ ml	µg Ca/ ml	µg Ca/ ml
	1.37	3.48	2.34
	2.71	2.90	2.54
	2.94	6.26	2.61
	3.67	8.01	2.39
	3.31	4.19	2.41
	4.02	3.22	2.32
	1.65	3.05	3.63
	2.18	3.05	1.43
	2.41	3.92	0.41
	1.77	3.49	2.03
Mittelwert	2.60	4.16	2.21
Stabw	0.89	1.67	0.83

Tab. 6.5. Einzelergebnisse der atomadsorptionsspektrometrischen Kalziummessungen der Kontrollen (ohne Pellikel) der Schmelzproben.

6.2 Ergebnisse der Dentinproben

Für Dentinproben zeigte die zwei-faktorielle ANOVA einen signifikanten Unterschied ($p = 0.0000$) sowohl zwischen den Faktoren „Pellikel-frei“ und „Pellikel-bedeckt“ als auch zwischen den verschiedenen Säuren. Die Wechselwirkung zwischen den Kriterien (Vorhandensein der Pellikel und Art der Säure) war nicht signifikant ($p = 0.14$). Unabhängig von der Anwesenheit der Pellikel verursachte Zitronensäure einen signifikant höheren Kalziumverlust als Salz- und Phosphorsäure, die untereinander wiederum nicht signifikant unterschiedlich waren (Abb. 6.2). Die Einzelwerte der atomadsorptionsspektrometrischen Kalziummessungen der „Pellikel-bedeckten“ Dentinproben sind in Tabelle 6.6 aufgeführt. Der Tabelle 6.7 können die Einzelwerte der atomadsorptionsspektrometrischen Kalziummessungen für die Kontrollen der Dentinproben entnommen werden. Ein Vergleich der Mittelwerte aus den Tabellen 6.6 und 6.7 zeigt, dass die „Pellikel-bedeckten“ Dentinproben einen niedrigeren Kalziumverlust aufweisen als die Kontrollen der Dentinproben.

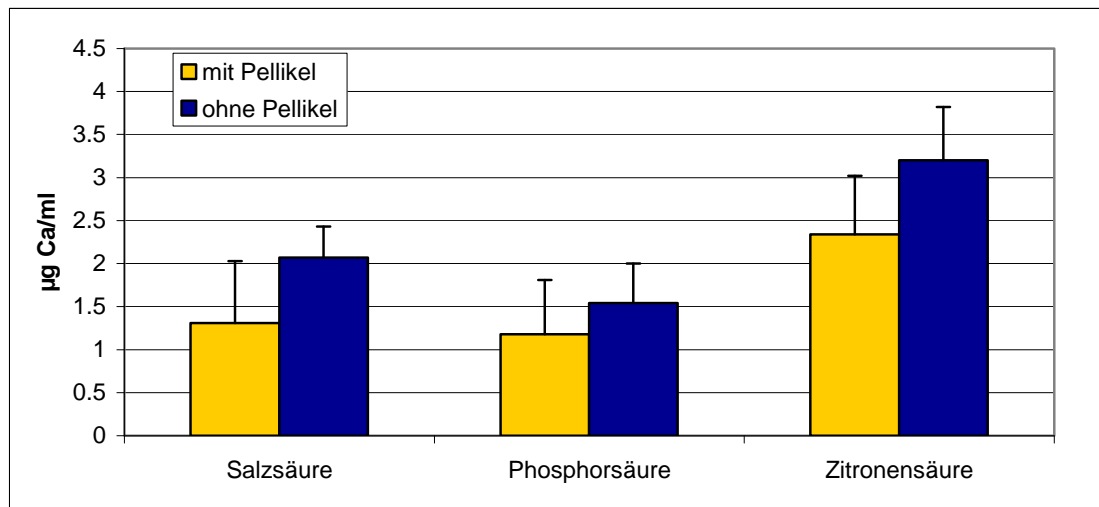


Abb. 6.2. Mittelwerte und Standardabweichung des Kalziumverlustes ($\mu\text{g Ca/ml}$) in „Pellikel-bedeckten“ und „Pellikel-freien“ Proben. In allen Säuregruppen zeigten „Pellikel-bedeckte“ Proben einen signifikant geringeren Kalziumverlust als „Pellikel-freie“ Proben.

Proband	Salzsäure pH 2.6	Zitronensäure pH 2.6	Phosphorsäure pH 2.6
	$\mu\text{g Ca/ ml}$	$\mu\text{g Ca/ ml}$	$\mu\text{g Ca/ ml}$
1	1.73	2.81	1.45
	4.21	2.61	0.90
	0.90	1.18	2.18
2	2.02	1.56	0.29
	1.56	3.48	1.17
	1.96	2.54	2.18
3	2.48	2.48	1.17
	1.16	3.13	1.02
	0.87	3.06	1.16
4	1.84	2.57	1.73
	1.47	2.59	1.47
	1.10	3.58	0.55

5	1.10	2.94	2.96
	1.47	2.59	0.16
	0.32	2.59	0.64
6	0.80	2.09	1.34
	1.13	1.61	0.87
	1.31	1.75	0.58
7	0.73	2.76	1.02
	1.10	1.89	1.45
	0.87	0.73	1.02
8	0.87	1.45	0.58
	1.31	2.47	0.71
	0.43	2.61	0.29
9	0.96	1.77	1.60
	1.03	3.05	1.23
	1.36	2.18	0.68
10	1.61	2.41	1.88
	0.80	2.42	1.31
	0.87	1.48	1.89
Mittelwert	1.31	2.35	1.18
Stabw	0.73	0.68	0.63

Tab. 6.6. Einzelergebnisse der atomadsorptionsspektrometrischen Kalziummessungen der „Pellikel-bedeckten“ Dentinproben.

	Salzsäure pH 2.6	Zitronensäure pH 2.6	Phosphorsäure pH 2.6
	µg Ca/ ml	µg Ca/ ml	µg Ca/ ml
	2.11	3.10	1.89
	2.71	4.11	0.82
	2.03	3.24	1.60
	2.39	3.82	1.10
	2.57	3.95	1.93
	1.61	2.69	1.45
	2.02	2.90	1.74
	2.03	3.19	0.86
	1.48	2.32	1.64
	1.77	2.42	1.89
Mittelwert	2.07	3.17	1.49
Stabw	0.40	0.62	0.42

Tab. 6.7. Einzelergebnisse der atomadsorptionsspektrometrischen Kalziummessungen der Kontrollen (ohne Pellikel) der Dentinproben.

6.3 Vergleich der Ergebnisse zwischen Schmelz- und Dentinproben

Die Analyse des Pellikelschutzes (% Reduktion des Kalziumverlustes) zeigte einen signifikanten Unterschied zwischen Schmelz- und Dentinerosionen ($p < 0.0001$), aber nicht zwischen den Säuren ($p = 0.25$). Die Wechselwirkung zwischen diesen Kriterien (Art der Zahnhartsubstanz und Art der Säure) war nicht signifikant ($p = 0.18$).

Unabhängig von der Säure war der Kalziumverlust signifikant niedriger auf „Pellikel-bedeckten“ Schmelzproben als auf „Pellikel-bedeckten Dentinproben (Tab. 6.3).

Säure	Substrat (mittlere Reduktion (%) des Kalziumverlustes)	
	Schmelz	Dentin
Salzsäure	58.0 (12.6)	36.2 (22.4)
Phosphorsäure	57.7 (15.1)	26.7 (19.3)
Zitronensäure	67.1 (17.7)	28.5 (12.4)
Mittelwert (SD)	60.9 (5.3)	30.5 (5.0)

Tab. 6.3. Mittelwerte (SD) der Reduktion des Kalziumverlustes durch eine 120 min Pellikelbildung auf Schmelz- und Dentinproben.

6.4. Speichelparameter

Die einzelnen Messwerte der Speichelfliessraten, pH-Werte und Pufferkapazitäten der unstimulierten und stimulierten Speichelproben der 10 Probanden sind in Tabelle 6.8 aufgeführt. Alle Speichelparameter lagen im physiologischen Bereich. Auf eine statistische Auswertung wurde verzichtet.

Proband	Unstimuliert			Stimuliert		
	Speichelmenge g/5 min	pH-Wert	Puffer- kapazität	Speichelmenge g/5 Minuten	pH-Wert	Puffer- kapazität
1	2.8105	7.22	0.05	8.5994	7.77	0.10
	2.3061	7.10	0.04	7.5607	7.90	0.10
	2.3116	7.78	0.07	7.4510	7.68	0.09
	1.9982	7.36	0.05	6.6005	7.86	0.11
	1.5947	7.00	0.04	7.0959	7.64	0.12
	1.4498	7.24	0.07	6.7120	7.77	0.12
2	1.4388	6.40	0.03	6.0279	7.03	0.06
	1.4388	6.40	0.03	6.0279	7.03	0.06
	2.7938	7.25	0.04	7.7816	7.33	0.08
	2.6604	6.95	0.03	5.1322	7.05	0.05
	2.6604	6.95	0.03	5.1322	7.05	0.05
	2.6802	6.85	0.02	7.1643	7.27	0.07
3	2.7917	6.85	0.07	5.1547	7.39	0.06
	1.8332	6.79	0.09	5.8152	7.18	0.07
	1.9482	6.92	0.06	5.7265	7.30	0.07
	2.9733	6.99	0.10	3.4259	7.64	0.09
	3.5773	6.87	0.05	4.4741	7.42	0.08
	2.7397	6.89	0.07	2.6973	7.51	0.07

4	1.1118	6.33	0.04	2.9429	7.12	0.07
	1.1118	6.33	0.04	2.9429	7.12	0.07
	1.1681	6.80	0.03	3.1105	7.16	0.05
	1.1681	6.80	0.03	3.1105	7.16	0.05
	1.1148	6.72	0.03	2.2217	7.10	0.05
	1.1148	6.72	0.03	2.2217	7.10	0.05
5	1.5359	7.41	0.90	1.6045	7.41	0.11
	1.5359	7.41	0.90	1.6045	7.41	0.11
	1.9318	7.49	0.08	3.2049	7.69	0.08
	1.9318	7.49	0.08	3.2049	7.69	0.08
	3.0988	7.44	0.07	3.0987	7.81	0.09
	3.0988	7.44	0.07	3.0987	7.81	0.09
6	2.1182	6.94	0.06	5.6166	7.50	0.09
	2.1182	6.94	0.06	5.6166	7.50	0.09
	2.0086	7.38	0.05	4.9044	7.71	0.10
	2.0086	7.38	0.05	4.9044	7.71	0.10
	3.1072	7.08	0.06	5.7081	7.68	0.09
	3.1072	7.08	0.06	5.7081	7.68	0.09
7	2.4700	7.57	0.11	2.8045	7.90	0.11
	2.4700	7.57	0.11	2.8045	7.90	0.11
	2.5412	7.44	0.09	2.4011	7.61	0.08
	2.5412	7.44	0.09	2.4011	7.61	0.08
	2.1240	7.11	0.06	2.6341	7.23	0.15
	2.1240	7.11	0.06	2.6341	7.23	0.15
8	3.1492	7.50	0.07	5.5862	7.92	0.12
	3.1492	7.50	0.07	5.5862	7.92	0.12
	2.7000	7.71	0.07	4.1455	8.02	0.12
	2.7000	7.71	0.07	4.1455	8.02	0.12
	2.9118	7.62	0.08	4.1398	8.02	0.12
	2.9118	7.62	0.08	4.1398	8.02	0.12

9	5.9814	7.02	0.08	20.2506	8.10	0.27
	5.7107	7.05	0.09	18.8069	7.82	0.23
	8.0566	7.09	0.09	15.2433	7.79	0.23
	8.0566	7.09	0.09	15.2433	7.79	0.23
	6.3839	7.04	0.09	15.5815	7.60	0.21
	6.3839	7.04	0.09	15.5815	7.60	0.21
10	3.3337	6.82	0.27	5.7680	7.55	0.11
	3.3337	6.82	0.27	5.7680	7.55	0.11
	2.5608	6.99	0.10	6.3306	7.50	0.12
	2.5608	6.99	0.10	6.3306	7.50	0.12
	3.0079	7.10	0.08	6.392	7.55	0.09
	3.0079	7.10	0.08	6.392	7.55	0.09

Tab. 6.8. Einzelwerte der Speichelparameter für die Fließrate, den pH-Wert und die Pufferkapazität der unstimulierten und stimulierten Speichelproben der 10 Probanden.

7 Diskussion

7.1 Diskussion der Methodik

7.1.1 Probenmaterial

In dieser Studie wurden Schmelz- und Dentinproben von permanenten bovinen Unterkieferfrontzähnen verwendet. Bovine Zähne werden in vielen Studien verwendet, weil diese in grosser Menge zur Verfügung stehen und mehr Zahnhartsubstanz zur Verfügung stellen. Zudem sind Rinderzähne nicht durch äussere Einwirkungen (zum Beispiel Ernährungsverhalten, Fluoridierungsmassnahmen) beeinflusst und zeigen deshalb eine homogenere Mineralzusammensetzung als verschiedene humane Zähne, so dass von einheitlichen Reaktionsmustern ausgegangen werden kann (Kielbassa et al. 2001a, Kielbassa and Meyer-Lueckel 2001b, Hannig et al. 2001, Wegehaupt et al. 2008).

Die chemische Zusammensetzung von Schmelz und Dentin boviner Zähne sind humanen Zähnen sehr ähnlich. Deshalb können humane Zähne in vielen Untersuchungen durch Rinderzähne ersetzt werden (Esser et al. 1998). Attin et al. (2007) konnten zeigen, dass sich bovine und humane Schmelzproben unter in vitro und in vivo Bedingungen sehr ähnlich in der Entwicklung erosiver Defekte verhalten. Deshalb sind die Resultate aus Untersuchungen mit bovinem Schmelz auf humanen Schmelz übertragbar (Attin et al. 1997, Kielbassa et al. 2001a). Allerdings muss hervorgehoben werden, dass sich boviner Schmelz bei einem Säureangriff zwei- bis dreimal schneller auflöst (Meurman and Frank 1991, Amaechi et al. 1999b, Hannig and Balz 2001). Dies könnte in der höheren Porosität und den grösseren Mineralkristallen von bovinem Schmelz begründet sein (Amaechi et al. 1999b, Attin et al. 2007). Dieser Tatsache muss bei der Interpretation von

Erosionsstudien, welche bovinen Schmelz verwenden, Beachtung geschenkt werden (Attin et al. 2007).

Vor Versuchsbeginn wurden die Zahnhartsubstanzen γ -sterilisiert. Mit dieser Methode müssen die Proben nicht erhitzt werden, was eine Proteindenaturierung organischer Zahnbestandteile zur Folge hätte und deshalb zu einem veränderten Reaktionsmuster gegenüber erosiven Einflüssen führen kann.

7.1.2 Intraorale Pellikelbildung

Für die intraorale Exposition der Proben wurde ein Zeitraum von 2h gewählt, der sich mit der Expositionsdauer anderer Untersuchungen deckt (Hannig et al. 2003, Hannig et al. 2004b, Hara et al. 2006b). Sowohl die Zusammensetzung als auch die enzymatische Aktivität von in vitro entstandener Pellikel unterscheiden sich stark von der in vivo gebildeten Pellikel (Jensen et al. 1992, Yao et al. 2001). Ausserdem konnten Hall et al. (1999) zeigen, dass der Schutz gegen erosive Angriffe für eine in situ gebildete Pellikel deutlich besser ist als für eine in vitro gebildete Pellikel. Aus diesen Gründen können Forschungsergebnisse über Speichelpellikel nur dann auf die intraorale Situation übertragen werden, wenn die Untersuchung an in situ gebildeter Pellikel durchgeführt wird (Hannig and Joiner 2006).

Ältere in vitro Untersuchungen, die sich mit den säureprotektiven Pellikeleigenschaften befasst haben, vermuteten, dass der Schutz vor erosiven Angriffen mit der Zeit der Pellikelformation zunimmt (Zahradnik et al. 1976, Zahradnik et al. 1978, Nieuw Amerongen et al. 1987, Featherstone et al. 1993, Kautsky and Featherstone 1993). Deshalb wurde angenommen, dass bestimmte Reifungsprozesse (zum Beispiel

Veränderungen in der Proteinzusammensetzung und / oder strukturelle Veränderungen) über einen Zeitraum von mehreren Tagen unbedingt nötig sind, um die säureprotektiven Eigenschaften der Pellikel zu verbessern (Hannig and Balz 1999, Hannig 2002, Hannig and Joiner 2006). Allerdings enthält eine Pellikel bereits nach 4 h Exposition in der Mundhöhle Bakterien, weshalb diese zuvor erwähnten Studien eher Plaque- und nicht Pellikelerosionsschutz beobachtet haben (Lendenmann et al. 2000). Die dentale Plaque oder auch dentaler Biofilm genannt, bildet sich auf allen Zahnoberflächen und setzt sich aus unterschiedlichsten Mikroorganismen zusammen, die in einer extrazellulären Polymermatrix mikrobiellen und wirtseigenen Ursprungs eingebettet sind (Marsh 2005, Konradsson et al. 2007). Neuere Studien konnten jedoch zeigen, dass die Zeit für den vermeintlichen Reifungsprozess der unter in vivo Bedingungen gebildeten Pellikel wesentlich geringeren Einfluss auf deren Säureschutzeigenschaften hat, als bisher angenommen wurde (Hannig 2002, Hannig et al. 2003). Hannig und Balz (1999) stellten fest, dass bereits nach 24 h eine in vivo gebildete Pellikel die Schmelzoberfläche ebenso gut vor verschiedenen erosiven Angriffen schützen kann, wie eine über einen Zeitraum von 7 Tagen in vivo gebildete Pellikel. Auch zwischen Pellikel, die über 2h, 6h, 12h und 24 h in situ gebildet wurden, konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Erosionsschutzes festgestellt werden. Die erosive Demineralisation von Schmelz durch die Pellikel wurde in ähnlichem Ausmass reduziert (Hannig et al. 2003). Selbst eine 3 min in situ gebildete Pellikel soll einen mit einer 60- und 120-min Pellikel vergleichbaren Säureschutz bieten (Hannig et al. 2004b).

Diese Ergebnisse verdeutlichen, dass Reifungsprozesse über längere Zeit offensichtlich das Schutzpotenzial der in vivo gebildeten Pellikel nicht vergrössern. Folglich ist der

vermutete Prozess der Pellikelreifung weniger wichtig als für die *in vitro* Pellikel. Obwohl eine 3 min und eine 120 min *in situ* gebildete Pellikel die Zahnhartsubstanz gleich gut vor Erosionen schützen, wurde für unsere Untersuchung eine 120 min Pellikelbildungszeit gewählt. Dieser Entscheid basiert auf der Beobachtung, dass sich zwischen 90-120 min ein Gleichgewicht zwischen der Proteinadsorption und -desorption an der Zahnoberfläche einstellt und dass die Pellikel im weiteren Verlauf nicht wesentlich an Dicke zunimmt (Sønju and Rølla 1973, Skjørland et al. 1995, Hara et al. 2006b). Zudem ist man heute der Ansicht, dass eine initial adsorbierte Proteinschicht, die so genannte basale Pellikelschicht, der wichtigste Pellikelbestandteil für den Erosionsschutz darstellt (Hannig 2002, Hannig et al. 2004b). TEM (= Transmission electron microscopy) Untersuchungen zeigten einen immer gleich bleibenden Aufbau der *in situ* gebildeten Pellikel. Direkt auf der Zahnoberfläche bildet sich bereits innerhalb von einer Minute eine durchgehende, elektronendichte, 10-20 nm dicke, basale Schicht (Hannig 1999, Hannig 2002). Diese ist nach 2 h von einer heterogenen, lose angeordneten, 300-750 nm dicken Schicht überlagert (Hannig 1999, Hannig and Balz 1999, Hannig et al. 2003, Hannig et al. 2007). Obwohl im weiteren Verlauf die Pellikel noch ein wenig an Dicke zunimmt (Hannig 1999), scheint diese äussere, lose angeordnete Pellikelschicht wenig zusätzlichen Schutz gegen Erosionen über die erste gebildete Pellikelschicht hinaus zu bieten (Hannig et al. 2003). Die weniger dichte, lose angeordnete, äussere Pellikelschicht weist eine hohe Löslichkeit in Säure auf, während die dicht angeordnete, basale Schicht eine vergleichsweise hohe Säureresistenz hat (Hannig 2002, Nekrashevych and Stösser 2003, Hannig and Joiner 2006). Erst nachdem die äusseren Pellikelbestandteile aufgelöst worden sind, wird mit zunehmender Säurekonzentration und Expositionszeit auch

teilweise die basale Pellikelschicht angegriffen (Hannig and Balz 2001). Interessanterweise konnte aber selbst nach einer 5 min Exposition in 1% Zitronen- oder Salzsäure keine vollständige Pellikelentfernung festgestellt werden und die basale Pellikelschicht blieb als ein ununterbrochenes, durchgehendes Band auf allen Probeoberflächen zurück (Hannig and Balz 1999, Hannig and Balz 2001, Hannig and Joiner 2006, Hannig et al. 2007). Diese verbleibende Pellikelschicht wird verantwortlich gemacht für die partielle Säureresistenz von in vivo gebildeter Pellikel, die sowohl als Diffusionsbarriere als auch als semipermeable Membran wirken kann (Hannig et al. 2003). Obwohl die Pellikel nicht vollständig aufgelöst wird, kann sie Erosionen nicht vollständig verhindern (Hannig et al. 2004b, Hara et al. 2006b), sondern nur die Demineralisation verlangsamen und den Kalziumverlust im Vergleich zu pellikelfreien Proben signifikant reduzieren (Hannig and Balz 1999, Nekrashevych and Stösser 2003, Hannig et al. 2004b, Hannig et al. 2007).

7.1.3 Säureexposition der Schmelz- und Dentinproben

In dieser Studie wurden die Schmelz- und Dentinproben einem kurzfristigen erosiven Angriff von 60 s ausgesetzt. Damit sollte die klinische Situation beim Konsum eines sauren Getränkes oder der Magensäureangriff bei Reflux und Erbrechen simuliert werden.

Zitronensäure wurde gewählt, weil sie häufig in sauren Früchten, Gemüse, Fruchtsäften (West et al. 2001, Babour et al. 2003) und in Softdrinks vorkommt (Edwards et al. 1999, Hughes et al. 2000, West et al. 2001, von Fraunhofer and Rogers 2005). Phosphorsäure wurde in diese Untersuchung miteinbezogen, da auch sie in Softdrinks vorkommt

(hauptsächlich in Coca-Cola®) (West et al. 2000, Roos and Donly 2002, Owens and Kitchens 2007). Salzsäure wurde gewählt, da sie im Mageninhalt vorkommt und bei unterschiedlichen Erkrankungen in die Mundhöhle gelangt (West et al. 2001). Die Säuren wurden mit einem pH-Wert von 2.6 appliziert. Dies ist ein durchschnittlicher Wert, der sich im Normbereich vielfach gemessener Softdrinks bewegt (Edwards et al. 1999, West et al. 2001, von Fraunhofer and Rogers 2005, Lussi and Jaeggi 2006, Jain et al. 2007, Owens 2007) und auch für Magensäure nachgewiesen wurde (Bartlett and Coward 2001, Imfeld and Imfeld 2005).

7.2 Diskussion der Ergebnisse

7.2.1 Reduktion des Kalziumverlustes durch die Schmelz- und Dentinpellikel

In dieser in situ Studie wurde eine durchschnittliche Reduktion des Kalziumverlustes zwischen „Pellikel-bedeckten“ und „Pellikel-freien“ Schmelzproben von 60.9% gefunden. Die einzigen vergleichbaren in situ Untersuchungen von Hannig et al. (2003, 2004b) zeigen für Schmelzproben, die kurzfristig (60 s) in einer 1% Zitronensäure exponiert wurden einen Schutz zwischen 59.8% und 77.5%. Für die Dentinpellikel der vorliegenden Studie ergab sich einen Schutz von 30.5%. Dieser Wert ist vergleichbar mit den Resultaten von Hannig et al. (2007), die einen Schutz durch die Dentinpellikel von 27% feststellen konnten.

Aus den Ergebnissen der vorliegenden Studie ist ersichtlich, dass die durchschnittliche Reduktion des Kalziumverlustes doppelt so gross für Schmelz im Vergleich zu Dentin ist. Hannig et al. (2003) schreibt das antierosive Potenzial der Schmelzpellikel dessen Fähigkeit zu, einerseits als Diffusionsbarriere und andererseits als semipermeable

Membran zu wirken. Weil die Dentinpellikel die Dentinoberfläche schlechter vor erosiven Säureangriffen schützt, wird angenommen, dass die in situ gebildete Dentinpellikel eher als semipermeables Netz für Ionen als als Diffusionsbarriere wirkt (Hannig et al. 2007).

Wetton et al. (2006) stellten fest, dass in vitro gebildete Pellikel auf eine langfristige Erosion von 10 min 37% Schutz für die Schmelzoberfläche und etwa 25% Schutz für die Dentinoberfläche liefert im Vergleich zu „Pellikel-freien“ Proben. Es wurde vermutet, dass der Dentinschutz dadurch zustande kommt, dass Speichel in die Dentintubuli eindringt und sowohl eine Pellikelschicht innerhalb der Dentintubuli als auch auf der Dentinoberfläche bildet, wodurch die Öffnungen der Dentintubuli von einer viskösen Flüssigkeitsschicht verschlossen werden. Im Gegensatz dazu fanden Hara et al. (2006b) bei einer langfristigen Säureexpositionszeit von 10 min nur einen limitierten Pellikelschutz für die Schmelzoberfläche und konnten keinen Erosionsschutz für „Pellikel-bedeckte“ Dentinoberflächen nachweisen. Der Pellikelschutz für Schmelz war jedoch bei der Messung nach 20 und nach 30 min Säureexposition nicht mehr vorhanden. Die Autoren erklären den Unterschied zwischen Schmelz und Dentin durch die höhere Porosität und Löslichkeit von Dentin im Vergleich zu Schmelz, was zu einer schnelleren Demineralisation des Dentins führt. Dadurch wird allerdings verhindert, dass die Pellikel überhaupt als schützende Barriere wirken kann (Hara et al. 2006b). Nach (Hara et al. 2006b) scheint der Säureschutz der Pellikel abhängig von der Säureexpositionsdauer und von der Art der Zahnhartsubstanz zu sein. Da Hannig und Balz (1999) eine zunehmende Auflösung der Schmelzoberfläche bei langfristiger (60-300 s) Säureexposition feststellen, ist deshalb anzunehmen, dass auch eine in vivo gebildete Pellikel nach einer gewissen

Zeit ihre Schutzfunktion verliert. Da sich die schützenden Eigenschaften zwischen den verschiedenen Säuren in dieser Studie nicht unterscheiden, kann angenommen werden, dass die zum Teil auftretende Pellikelauflösung durch Säuren, wie sie Hannig und Balz (1999, 2001) beschrieben haben, ähnlich für alle Schmelz- beziehungsweise Dentinproben ist und dass das Ausmass der Pellikelschädigung hauptsächlich von der Protonenkonzentration abhängig ist.

Es werden jedoch weitere Untersuchungen benötigt, die den Erosionsschutz einer 2 h in situ gebildeten Schmelz- und Dentinpellikel zwischen kurz- und langfristigen Säureangriffen genauer dokumentieren.

7.2.2 Wirkung der verschiedenen Säuren auf die Schmelz- und Dentinpellikel

Bislang ist dies die erste Untersuchung, welche die protektiven Auswirkungen der in situ gebildeten Schmelz- und Dentinpellikel auf kurzfristige erosive Angriffe durch unterschiedliche Säuren betrachtet. In der vorliegenden Untersuchung wurde festgestellt, dass die Zitronensäure einen grösseren, jedoch nicht signifikant grösseren, Kalziumverlust in Schmelz- wie auch in Dentinproben verursacht als Phosphor- und Salzsäure bei identischem pH-Wert und identischer Expositionszeit. Diese Beobachtung deckt sich mit den Feststellungen aus früheren Untersuchungen, die zeigten, dass die Zitronensäure bei identischen pH-Werten grössere Erosionen verursacht als Phosphorsäure (West et al. 2001, Lussi and Balz 2006, Machado et al. 2008) und auch als Salzsäure (Hannig et al. 2005b). Von Fraunhofer und Rogers (2005) konnten keinen Zusammenhang zwischen der Schmelzauflösung und dem pH-Wert eines Getränkes nachweisen. Deshalb scheint nicht nur der pH-Wert allein, sondern auch der titrierbare

Säuregehalt, einen starken Einfluss auf die Erosionsfähigkeit einer Säurelösung zu haben (Hannig et al. 2005b). Jensdottir et al. (2006) stellten jedoch fest, dass der titrierbare Säuregehalt keinen Einfluss auf das erosive Potenzial einer Säure hat, die für weniger als 3 min auf eine Zahnhartsubstanz wirken kann. Der titrierbare Säuregehalt nimmt aber im Erosionsprozess an Bedeutung zu, wenn eine Säure über einen längeren Zeitraum mit einem Zahn in Kontakt steht (zum Beispiel bei ungewöhnlichen Trinkgewohnheiten oder bei Mundtrockenheit) (Jensdottir et al. 2006). Zitronensäure wird als extrem erosiv für Zahnhartsubstanzen erachtet, weil sie zusätzlich zu ihrer hohen Pufferkapazität auch noch die Fähigkeit hat, mit ihren Zitratanionen Kalziumionen zu binden und so genannte Chelate zu bilden (Järvinen et al. 1991, Hannig et al. 2005b, Jain et al. 2007). Da es für Zitronensäure jedoch unwahrscheinlich ist, dass solche Chelatkomplexe bei pH-Werten unterhalb von 3.9 entstehen (Eisenburger and Addy 2001, West et al. 2001, Barbour et al. 2003, Attin et al. 2005) wird in dieser aktuellen Untersuchung, in der die Säuren mit einem pH-Wert von 2.6 appliziert worden sind, hauptsächlich die hohe Pufferkapazität der Zitronensäure eine Rolle bei der Demineralisation der Zahnhartsubstanzen gespielt haben.

Im Gegensatz zur Untersuchung von Hannig et al. (2005b) und der vorliegenden Studie, welche reine Säurelösungen zur Erodierung der Zahnhartsubstanzen verwendet haben, applizieren andere Forschungsgruppen (Lippert et al. 2004, Attin et al. 2005, Jensdottir et al. 2005, Jensdottir et al. 2006) oft säurehaltige, im Handel erhältliche Getränke unter anderem Coca-Cola®, Sprite® oder Orangensaft. Solche Getränke enthalten allerdings einerseits mehrere verschiedene Säuren (Owens 2007) und andererseits eine unterschiedliche Kalzium-, Phosphat- und Fluoridkonzentration (Attin et al. 2005,

Jensdottir et al. 2005, Lussi and Jaeggi 2006), welche den Sättigungsgrad einer Säure gegenüber der Zahnhartsubstanz bestimmen. Da nun bereits eine kleine Zunahme des Sättigungsgrades die Demineralisationsrate reduzieren kann (Barbour et al. 2005), macht es wenig Sinn solche Studien miteinander zu vergleichen.

8 Literaturverzeichnis

ADDY M., SHELLIS R. P. (2006)

Interaction between attrition, abrasion and erosion in tooth wear
Monogr Oral Sci. 20:17-31

AGHA-HOSSEINI F., DIZGAH I. M., AMIRKHANI S. (2006)

The composition of unstimulated whole saliva of healthy dental students
J Contemp Dent Pract 7(2):104-111

AL-DLAIGAN Y. H., SHAW L., SMITH A. J. (2002)

Dental erosion in a group of British 14-year-old school children. Part II: Influence of dietary intake
Br Dent J. 192(9):526-530

AMAECHI B. T., HIGHAM S. M., EDGAR W. M. (1999b)

Factors influencing the development of dental erosion in vitro: enamel type, temperature and exposure time
J Oral Rehabil. 26(8):624-630

AMAECHI B. T., HIGHAM S. M., EDGAR W. M., MILOSEVIC A. (1999a)

Thickness of acquired salivary pellicle as a determinant of the sites of dental erosion
J Dent Res. 78(12):1821-1828

ATTIN T., WEGEHAUPT F., GRIES D., WIEGAND A. (2007)

The potential of deciduous and permanent bovine enamel as substitute for deciduous and permanent human enamel: erosion-abrasion experiments
J Dent. 35(10):773-777

ATTIN T., WEISS K., BECKER K., BUCHALLA W., WIEGAND A. (2005)

Impact of modified acidic soft drinks on enamel erosion

Oral Dis. 11(1):7-12

ATTIN T., KOIDL U., BUCHALLA W., SCHALLER H. G., KIELBASSA A. M.,

HELLWIG E. (1997)

Correlation of microhardness and wear in differently eroded bovine dental enamel

Arch Oral Biol. 42(3):243-250

BARBOUR M. E., PARKER D. M., ALLEN G. C., JANDT K. D. (2003)

Human enamel dissolution in citric acid as a function of pH in the range $2.30 \leq \text{pH} \leq 6.30$

- a nanoindentation study

Eur J Oral Sci. 111(3):258-262

BARBOUR M. E., PARKER D. M., ALLEN G. C., JANDT K. D. (2005)

Human enamel erosion in constant composition citric acid solutions as a function of degree of saturation with respect to hydroxyapatite

J Oral Rehabil. 32(1):16-21

BARTLETT D. W., COWARD P. Y. (2001)

Comparison of the erosive potential of gastric juice and a carbonated drink in vitro

J Oral Rehabil. 28(11):1045-1047

CAIRNS A. M., WATSON M., CREANOR S. L., FOYE R. H. (2002)

The pH and titratable acidity of a range of diluting drinks and their potential effect on dental erosion

J Dent. 30(7-8):313-317

CARLEN A., BÖRJESSON A. C., NIKDEL K., OLSSON J. (1998)

Composition of pellicles formed in vivo on tooth surfaces in different parts of the dentition, and in vitro on hydroxyapatite

Caries Res. 32(6):447-455

DAWES C., JENKINS G. N., TONGE C. H. (1963)

The nomenclature of the integuments of the enamel surface of teeth

Br Dent J 115:65-68

DE ALMEIDA PDEL V., GREGIO A. M., MACHADO M. A., DE LIMA A. A., AZEVEDO L. R. (2008)

Saliva composition and functions: a comprehensive review

J Contemp Dent Pract 9(3):72-80

DODDS M. W., JOHNSON D. A., YEH C. K. (2005)

Health benefits of saliva: a review

J Dent 33(3):223-233

EISENBURGER M., ADDY M. (2001)

Evaluation of pH and erosion time on demineralisation

Clin Oral Investig. 5(2):108-111

ESSER M., TINSCHERT J., MARX R. (1998)

Materialkennwerte der Zahnhartsubstanz des Rindes im Vergleich zur humanen Zahnhartsubstanz

Dtsch Zahnärztl Z 53(10):713-717

EDWARDS M., CREANOR S. L., FOYE R.H., GILMOUR W. H. (1999)
Buffering capacities of soft drinks: the potential influence on dental erosion
J Oral Rehabil. 26(12):923-927

EUROPÄISCHE PHARMAKOPÖE
4. Ausgabe, Grundwerk 2002 (in 2 Bänden)
Band 1, Allgemeiner Teil, Monographiegruppen, Seite 38
Schweizer Ausgabe
Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart

FEATHERSTONE J. D., BEHRMAN J. M., BELL J. E. (1993)
Effect of whole saliva components on enamel demineralization in vitro
Crit Rev Oral Biol Med. 4(3-4):357-362

FEATHERSTONE J. D., LUSSI A. (2006)
Understanding the chemistry of dental erosion
Monogr Oral Sci. 20:66-76

GANSS C. (2006)
Definition of erosion and links to tooth wear
Monogr Oral Sci. 20:9-16

GANSS C., LUSSI A. (2006)
Diagnosis of erosive tooth wear
Monogr Oral Sci. 20:32-43

GWINNETT A. J. (1992)
Structure and composition of enamel
Oper Dent. Suppl 5:10-17

HALL A. F., BUCHANAN C. A., MILLETT D. T., CREANOR S. L., STRANG R.,
FOYE R. H. (1999)

The effect of saliva on enamel and dentine erosion

J Dent. 27(5):333-339

HANNIG C., HAMKENS A., BECKER K., ATTIN R., ATTIN T. (2005b)

Erosive effects of different acids on bovine enamel: release of calcium and phosphate in
vitro

Arch Oral Biol. 50(6):541-552

HANNIG M. (1999)

Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intraoral sites
during a 24-h period

Clin Oral Investig. 3(2):88-95

HANNIG M. (2002)

The protective nature of the salivary pellicle

Int Dent J 52(5)Suppl 5:417-423

HANNIG M., BALZ M. (1999)

Influence of in vivo formed salivary pellicle on enamel erosion

Caries Res. 33(5):372-379

HANNIG M., BALZ M. (2001)

Protective properties of salivary pellicles from two different intraoral sites on enamel
erosion

Caries Res. 35(2):142-148

HANNIG C., BECKER K., HÄUSLER N., HOTH-HANNIG W., ATTIN T., HANNIG M. (2007)

Protective effect of the in situ pellicle on dentin erosion – an ex vivo pilot study

Arch Oral Biol. 52(5):444-449

HANNIG M., FIEBIGER M., GÜNTZER M., DÖBERT A., ZIMEHL R., NEKRASHEVYCH Y. (2004b)

Protective effect of the in situ formed short-term salivary pellicle

Arch Oral Biol. 49(11):903-910

HANNIG C., HANNIG M., ATTIN T. (2005a)

Enzymes in the acquired enamel pellicle

Eur J Oral Sci. 113(1):2-13

HANNIG M., HESS N. J., HOTH-HANNIG W., DE VRESE M. (2003)

Influence of salivary pellicle formation time on enamel demineralization-an in situ pilot study

Clin Oral Investig. 7(3):158-161

HANNIG C., SPITZMÜLLER B., MILLER M., HELLWIG E., HANNIG M. (2008)

Intrinsic enzymatic crosslinking and maturation of the in situ pellicle

Arch Oral Biol. 53(5):416-422

HANNIG M., DÖBERT A., STIGLER R., MÜLLER U., PROKHOROVA S. A. (2004a)

Initial salivary pellicle formation on solid substrates studied by AFM

J Nanosci Nanotechnol. 4(5):532-538

HANNIG M., JOINER A. (2006)

The structure, function and properties of the acquired pellicle

Monogr Oral Sci. 19:29-64

HARA A. T., ANDO M., GONZALEZ-CABEZAS C., CURY J. A., SERRA M. C.,

ZERO D. T. (2006b)

Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ

J Dent Res. 85(7):612-616

HARA A. T., LUSSI A., ZERO D. T. (2006a)

Biological factors

Monogr Oral Sci. 20:88-99

HAY D. I. (1973)

The interaction of human parotid salivary proteins with hydroxyapatite

Arch Oral Biol. 18(12):1517-1529

HELLWIG E., KLIMEK J., ATTIN T. (2007)

Einführung in die Zahnerhaltung

Urban und Fischer, München, S. 3-10

HELLWIG E., LUSSI A. (2006)

Oral hygiene products and acidic medicines

Monogr Oral Sci. 20:112-118

HUGHES J. A., WEST N. X., PARKER D. M., VAN DEN BRAAK M. H., ADDY M.

(2000)

Effects of pH and concentration of citric, malic and lactic acids on enamel, in vitro

J Dent. 28(2):147-152

HUMPHREY S. P., WILLIAMSON R. T. (2001)

A review of saliva: Normal composition, flow, and function

J Prosthet Dent 85(2):162-169

IMFELD T. (1996)

Dental erosion. Definition, classification and links

Eur J Oral Sci. 104(2 (Pt 2)):151-155

IMFELD C., IMFELD T. (2005)

Essstörungen (II): Zahnmedizinische Aspekte

Schweiz Monatsschr Zahnmed 115:1163-1171

JAEGGI T., SCHAFFNER M., BÜRGIN W., LUSSI A. (1999)

Erosionen und keilförmige Defekte bei Rekruten der Schweizer Armee

Schweiz Monatsschr Zahnmed 109:1171-1178

JÄRVINEN V. K., RYTÖMAA I. I., HEINONEN O. P. (1991)

Risk factors in dental erosion

J Dent Res. 70(6):942-947

JAIN P., NIHILL P., SOBKOWSKI J., AGUSTIN M. Z. (2007)

Commercial soft drinks: pH and in vitro dissolution of enamel

Gen Dent. 55(2):150-154

JENSEN J. L., LAMKIN M. S., OPPENHEIM F. G. (1992)

Adsorption of human salivary proteins to hydroxyapatite: a comparison between whole saliva and glandular salivary secretions

J Dent Res. 71(9):1569-1576

JENSDOTTIR T., BARDOW A., HOLBROOK P. (2005)

Properties and modification of soft drinks in relation to their erosive potential in vitro

J Dent. 33(7):569-575

JENSDOTTIR T., HOLBROOK P., NAUNTOFTE B., BUCHWALD C., BARDOW A.

(2006)

Immediate erosive potential of cola drinks and orange juices

J Dent Res. 85(3):226-230

KAUTSKY M. B., FEATHERSTONE J. D. (1993)

Effect of salivary components on dissolution rates of carbonated apatites

Caries Res. 27(5):373-377

KIELBASSA A. M., SHOHADAI S. P., SCHULTE-MÖNTING J. (2001a)

Effect of saliva substitutes on mineral content of demineralized and sound dental enamel

Support Care Cancer. 9(1):40-47

KIELBASSA A. M., MEYER-LUECKEL H. (2001b)

Die Auswirkungen von Speichelersatzmitteln und Mundspüllösungen auf Dentin

Schweiz Monatsschr Zahnmed 111:1060-1066

KONRADSSON K., CLAEISSON R., VAN DIJKEN J. W. (2007)

Dental biofilm, gingivitis and interleukin-1 adjacent to approximal sites of a bonded ceramic

J Clin Periodontol. 34(12):1062-1067

LENDENMANN U., GROGAN J., OPPENHEIM F. G. (2000)

Saliva and dental pellicle – a review

Adv Dent Res. 14:22-28

LI J., HELMERHORST E. J., CORLEY R. B., LUUS L. E., TROXLER R. F.,
OPPENHEIM F. G. (2003)

Characterization of the immunologic responses to human in vivo acquired enamel pellicle
as a novel means to investigate its composition
Oral Microbiol Immunol. 18(3):183-191

LIPPERT F., PARKER D. M., JANDT K. D. (2004)

Susceptibility of deciduous and permanent enamel to dietary acid-induced erosion studied
with atomic force microscopy nanoindentation
Eur J Oral Sci. 112(1):61-66

LUSSI A. (2006)

Erosive tooth wear – a multifactorial condition of growing concern and increasing
knowledge
Monogr Oral Sci. 20:1-8

LUSSI A., JAEGGI T. (2001)

Das erosive Potenzial verschiedener Zahnpflegeprodukte im Vergleich zu
Nahrungsmitteln und Getränken
Schweiz Monatsschr Zahnmed 111:274-281

LUSSI A., JAEGGI T. (2002)

Die Abrasion erosiv veränderter Zahnhartsubstanz – eine Literaturübersicht
Schweiz Monatsschr Zahnmed 112:629-634

LUSSI A., JAEGGI T. (2006)

Chemical factors
Monogr Oral Sci. 20:77-87

LUSSI A., SCHAFFNER M., JAEGGI T., GRÜNINGER A. (2005)

Erosionen: Befund – Diagnose – Risikofaktoren – Prävention – Therapie

Schweiz Monatsschr Zahnmed 115:917-935

MACHADO C., LACEFIELD W., CATLEDGE A. (2008)

Human enamel nanohardness, elastic modulus and surface integrity after beverage contact

Braz Dent J. 19(1):68-72

MANDEL I. D. (1987)

The functions of saliva

J Dent Res. 66 Spec No:623-627

MARSH P. D. (2005)

Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style

J Clin Periodontol. 32 Suppl 6:7-15

MEURMAN J. H., FRANK R. M. (1991)

Scanning electron microscopic study of the effect of salivary pellicle on enamel erosion

Caries Res. 25(1):1-6

NEKRASHEVYCH Y., STÖSSER L. (2003)

Protective influence of experimentally formed salivary pellicle on enamel erosion. An in vitro study

Caries Res. 37(3):225-231

NIEUW AMERONGEN A. V., ODERKERK C. H., DRIESSEN A. A. (1987)

Role of mucins from human whole saliva in the protection of tooth enamel against demineralization in vitro

Caries Res. 21(4):297-309

OWENS B. M. (2007)

The potential effects of pH and buffering capacity on dental erosion

Gen Dent. 55(6):527-531

OWENS B. M., KITCHENS M. (2007)

The erosive potential of soft drinks on enamel surface substrate: an in vitro scanning electron microscopy investigation

J Contemp Dent Pract. 8(7):11-20

PATEL P. R., BROWN W. E. (1975)

Thermodynamic solubility product of human tooth enamel: powdered sample

J Dent Res. 54(4):728-736

ROOS E. H., DONLY K. J. (2002)

In vivo dental plaque pH variation with regular and diet soft drinks

Pediatr Dent. 24(4):350-353

RYKKE M., SØNJU T., RØLLA G. (1990)

Interindividual and longitudinal studies of amino acid composition of pellicle collected in vivo

Scand J Dent Res. 98(2):129-134

RYTÖMAA I., JÄRVINEN V., KANERVA R., HEINONEN O. P. (1998)

Bulimia and tooth erosion

Acta Odontol Scand. 56(1):36-40

SCHEUTZEL P. (1996)

Etiology of dental erosion-intrinsic factors

Eur J Oral Sci. 104(2 (Pt 2)):178-190

SIQUEIRA W. L., ZHANG W., HELMERHORST E. J., GYGI S. P., OPPENHEIM F. G. (2007)

Identification of protein components in in vivo human acquired enamel pellicle using LC-ESI-MS/MS

J Proteome Res. 6(6):2152-2160

SØNJU T., RØLLA G. (1973)

Chemical analysis of the acquired pellicle formed in two hours on cleaned human teeth in vivo. Rate of formation and amino acid analysis

Caries Res. 7:30-38

SKJØRLAND K. K., RYKKE M., SØNJU T. (1995)

Rate of pellicle formation in vivo

Acta Odontol Scand. 53(6):358-362

TABAK L. A. (1990)

Structure and function of human salivary mucins

Crit Rev Oral Biol Med. 1(4):229-234

TABAK L. A., LEVINE M. J., MADNEL I. D., ELLISON S. A. (1982)

Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity

J Oral Pathol. 11(1):1-17

TEN CATE J. M., IMFELD T. (1996)

Dental erosion, summary

Eur J Oral Sci. 104(2 (Pt 2)):241-244

VACCA SMITH A. M., BOWEN W. H. (2000)

In situ studies of pellicle formation on hydroxyapatite discs

Arch Oral Biol. 45(4):277-291

VEERMAN E. C., VAN DEN KEYBUS P. A., VISSINK A., NIEUW AMERONGEN A. V. (1996)

Human glandular salivas: their separate collection and analysis

Eur J Oral Sci 104(4 (Pt 1)):346-352

VON FRAUNHOFER J. A., ROGERS M. M. (2005)

Effects of sports drinks and other beverages on dental enamel

Gen Dent. 53(1):28-31

WEGEHAUPT F., GRIES D., WIEGAND A., ATTIN T. (2008)

Is bovine dentine an appropriate substitute for human dentine in erosion/abrasion tests?

J Oral Rehabil. 35(5):390-394

WEST N. X., HUGHES J. A., ADDY M. (2000)

Erosion of dentine and enamel in vitro by dietary acids: the effect of temperature, acid character, concentration and exposure time

J Oral Rehabil. 27(10):875-880

WEST N. X., HUGHES J. A., ADDY M. (2001)

The effect of pH on the erosion of dentine and enamel by dietary acids in vitro

J Oral Rehabil. 28(9):860-864

WETTON S., HUGHES J., WEST N., ADDY M. (2006)

Exposure time of enamel and dentine to saliva for protection against erosion: a study in vitro

Caries Res. 40(3):213-217

YAO Y., BERG E. A., COSTELLO C. E., TROXLER R. F., OPPENHEIM F. G. (2003)

Identification of protein components in human acquired enamel pellicle and whole saliva using novel proteomics approaches

J Biol Chem. 278(7):5300-5308

YAO Y., GROGAN J., ZEHNDER M., LENDENMANN U., NAM B., WU Z.,

COSTELLO C. E., OPPENHEIM F. G. (2001)

Compositional analysis of human acquired enamel pellicle by mass spectrometry

Arch Oral Biol. 46(4):293-303

ZAHRADNIK R. T., MORENO E. C., BURKE E. J. (1976)

Effect of salivary pellicle on enamel subsurface demineralization in vitro

J Dent Res. 55(4):664-670

ZAHRADNIK R. T., PROPAS D., MORENO E. C. (1978)

Effect of salivary pellicle formation time on in vitro attachment and demineralization by *Streptococcus mutans*

J Dent Res. 57(11-12):1036-1042

ZERO D. T. (1996)

Etiology of dental erosion – extrinsic factors

Eur J Oral Sci. 104(2 (Pt 2)):162-177

ZERO D. T., LUSSI A. (2005)

Erosion – chemical and biological factors of importance to the dental practitioner

Int Dent J. 55(4 Suppl 1):285-290

ZERO D. T., LUSSI A. (2006)

Behavioral factors

Monogr Oral Sci. 20:100-105

ZIMMER S. (1998)

Softdrink-assoziierte Erosions-abrasionen

Schweiz Monatsschr Zahnmed 108:567-572

ZIPKIN J., MC CLURE F. J. (1949)

Salivary citrate and dental erosion; procedure for determining citric acid in saliva; dental erosion and citric acid in saliva

J Dent Res. 28(6):613-626

9 Tabellarischer Anhang

Proband	Salzsäure pH 2.6				Phosphorsäure pH 2.6			
	Schmelz		Dentin		Schmelz		Dentin	
	ohne Pellikel µg Ca/ ml	mit Pellikel µg Ca/ ml	ohne Pellikel µg Ca/ ml	mit Pellikel µg Ca/ ml	ohne Pellikel µg Ca/ ml	mit Pellikel µg Ca/ ml	ohne Pellikel µg Ca/ ml	mit Pellikel µg Ca/ ml
1	1.37	1.37	2.11	1.73	2.34	0.87	1.89	1.45
2	2.71	1.72	2.71	4.21	2.54	0.54	0.82	0.90
		1.08		0.90		1.16		2.18
		0.87		2.02		0.87		0.29
3	2.94	1.33	2.03	1.56	2.61	0.78	1.60	1.17
		1.17		1.96		0.55		2.18
		1.33		2.48		1.37		1.17
4	3.67	0.87	2.39	1.16	2.39	0.29	1.10	1.02
		0.15		0.87		1.02		1.16
		1.10		1.84		1.60		1.73
5	3.31	1.10	2.57	1.47	2.41	1.29	1.93	1.47
		0.92		1.10		1.47		0.55
		1.29		1.10		0.49		2.96
6	4.02	0.92	1.61	1.47	2.32	0.64	1.45	0.16
		0.00		0.32		0.32		0.64
		1.13		0.80		0.13		1.34
7	1.65	1.29	2.02	1.13	3.63	1.31	1.74	0.87
		1.02		1.31		1.45		0.58
		0.37		0.73		2.76		1.02
8	2.18	0.44	2.03	1.10	1.43	0.29	0.86	1.45
		0.58		0.87		0.73		1.02
		0.58		1.31		1.02		0.58
9	2.41	0.86	1.48	0.43	0.41	0.43	1.64	0.29
		1.13		0.96		2.32		1.60
		0.59		1.03		0.95		1.23
10	1.77	1.09	1.77	1.36	2.03	0.68	1.89	0.68
		2.89		1.61		0.40		1.88
		0.48		0.80		1.02		1.31
Mittelwert	2.60	1.01	2.07	1.31	2.21	0.92	1.49	1.18
Median	2.56	1.09	2.03	1.11	2.36	0.83	1.62	1.17
Stabw	0.89	0.53	0.40	0.73	0.83	0.60	0.42	0.63

Proband	Zitronensäure pH 2.6				Keine Säure (H ₂ O)	
	Schmelz		Dentin		Schmelz	Dentin
	ohne Pellikel µg Ca/ ml	mit Pellikel µg Ca/ ml	ohne Pellikel µg Ca/ ml	mit Pellikel µg Ca/ ml	mit Pellikel µg Ca/ ml	mit Pellikel µg Ca/ ml
1	3.48	1.01	3.10	2.81	0.38	0.57
		2.61		2.61	0.00	0.00
		0.89		1.18	0.15	0.15
2	2.90	1.33	4.11	1.56	0.17	0.17
		1.16		3.48	0.00	0.20
		1.76		2.54	0.14	0.27
3	6.26	0.87	3.24	2.48	0.00	0.00
		5.87		3.13	0.00	0.00
		1.62		3.06	0.00	0.00
4	8.01	1.10	3.82	2.57	0.00	0.00
		1.97		2.59	0.00	0.00
		0.49		3.58	0.00	0.00
5	4.19	1.29	3.95	2.94	0.00	0.00
		0.74		2.59	0.00	0.00
		0.49		2.59	0.00	0.00
6	3.22	2.57	2.69	2.09	0.00	0.00
		0.94		1.61	0.00	0.00
		0.13		1.75	0.00	0.15
7	3.05	0.37	2.90	2.76	0.00	0.00
		0.87		1.89	0.00	0.00
		0.44		0.73	0.00	0.00
8	3.05	0.44	3.19	1.45	0.00	0.00
		1.45		2.47	0.00	0.00
		0.00		2.61	0.00	0.00
9	3.92	0.96	2.32	1.77	0.00	0.00
		1.74		3.05	0.00	0.00
		0.73		2.18	0.00	0.00
10	3.49	1.77	2.42	2.41	0.00	0.00
		0.27		2.42	0.00	0.00
		0.13		1.48	0.15	0.00
Mittelwert	4.16	1.20	3.17	2.35	0.03	0.05
Median	3.49	0.95	3.15	2.51	0.00	0.00
Stabw	1.67	1.11	0.62	0.68	0.08	0.12

9. 2. Einzelergebnisse der atomadsorptionsspektrometrischen Kalziummessungen für „Pellikel-bedeckte“ Schmelz- und Dentinproben und für die Kontrollen (ohne Pellikel) der Schmelz- und Dentinproben.